

Ewa Waclawek

Dorota Włoga ✉

Pracownia Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek, Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

✉Pracownia Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek, Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Pasteura 3, 02-093, Warszawa; tel.: (22) 589 23 38, faks: (22) 822 53 42; e-mail: d.wloga@nencki.gov.pl

Artykuł otrzymano 7 stycznia 2016 r.
Artykuł zaakceptowano 21 stycznia 2016 r.

Key words: microtubule severing proteins, katanin, spastin, fidgetin, microtubules

Wykaz skrótów: ATP – adenozy-5'-trifosforan; APC – ang. *adenomatous polyposis coli*; ATPazy AAA (ang. *ATPases associated with diverse cellular activities*) – grupa proteaz zależnych od ATP; KATNAL (ang. *katanin p60 subunit A-like*) – białko podobne do kataniny p60; KLP (ang. *kinesin-like protein*) – białko podobne do kinezyzny; MEI (ang. *meiosis inhibitor*) – czynnik hamujący mejozę; PF (ang. *paralyzed flagella*) – nieruchome wici; RIC (ang. *ROP-Interactive Crib motif-containing protein*) – białko zawierające motyw Crib, oddziałujące z białkiem ROP; ROP (ang. *Rho of plants*) – białko Rho u roślin

Podziękowania: Praca naukowa finansowana w ramach Marie Curie Reintegration Grant nr 277122 oraz ze środków finansowych na naukę w latach 2011-2015 przyznanych na realizację projektu międzynarodowego współfinansowanego przez MNiSW.

STRESZCZENIE

Białka tnące mikrotubule posiadają zdolność do zależnej od ATP, miejscowej destabilizacji struktury mikrotubul, powodując ich skracanie lub rozpad. Powstałe krótkie fragmenty mikrotubul mogą służyć jako matryce w polimeryzacji nowych mikrotubul. Reorganizacja cytoszkieletu mikrotubularnego zależna od aktywności białek tnących mikrotubule odgrywa niezwykle ważną rolę w wielu procesach komórkowych, takich jak segregacja chromosomów w czasie mejozy i mitozy, migracja komórek, tworzenie wypustek nerwowych, powstawanie rzęsek i organizacja mikrotubul kortykalnych w komórkach roślinnych.

WPROWADZENIE

Białka tnące mikrotubule, katanina, spastyna i fidżetyna należą do nadrodziny ATPazy AAA (ang. *ATPases Associated with diverse cellular Activities*). Białka te wykorzystują energię uwolnioną w wyniku hydrolizy ATP do miejscowej destabilizacji struktury mikrotubul, a w konsekwencji do ich przecinania i tworzenia krótkich fragmentów, które mogą być obracane, transportowane i wydłużane, prowadząc do powstawania nowych mikrotubul albo ulegać depolimeryzacji prowadząc do wzrostu poziomu niespolimeryzowanej tubuliny [1,2]. W ciągu ostatnich dwudziestu lat dokonał się ogromny postęp w poznaniu i zrozumieniu roli jaką pełnią białka tnące mikrotubule w reorganizacji cytoszkieletu mikrotubularnego w czasie różnych procesów komórkowych, w tym w powstawaniu i dynamice meiotycznego i mitotycznego wrzeciona podziałowego, cytokinezie, migracji komórek, plastyczności neuronów, tworzeniu wici i rzęsek oraz organizacji sieci mikrotubularnej w komórkach roślin nasiennych.

CIĘCIE MIKROTUBUL A MIGRACJA KOMÓREK

W okresie interfazy komórki tworzą rozbudowaną sieć mikrotubul. Bardziej stabilne końce mikrotubul, tzw. „końce minus”, znajdują się w rejonie centrosomu, natomiast dynamiczne, ulegające polimeryzacji i depolimeryzacji tzw. „końce plus” mikrotubul wydłużają się w kierunku peryferii komórki. Tworzenie mikrotubul jest inicjowane w rejonie centrosomu, gdzie mogą one pozostać zakotwiczone końcami minus. Badania nad komórkami S2 muszki owocowej *Drosophila melanogaster* wykazały, że w rejonie kortykalnym komórki końce plus większości z docierających tam mikrotubul, zorientowane są prostopadle w stosunku do korteksu. W momencie gdy końce plus mikrotubul znajdują się w strefie kortykalnej, ich polimeryzacja zostaje zahamowana, a następnie ulegają one gwałtownej depolimeryzacji pod wpływem aktywności kinezyzny-13, KLP10A [3]. Dalsze badania nad komórkami S2 oraz zdolnymi do migracji komórkami D17 *Drosophila* wykazały, że w czasie interfazy pewna pula kataniny lokalizuje się pod błoną komórkową, a dynamika końców plus mikrotubul w rejonie kortykalnym zależy nie tylko od aktywności kinezyzny KLP10A, ale również od aktywności kataniny [4].

W komórkach S2 z wyciszoną ekspresją genu kataniny znaczna liczba mikrotubul docierających do strefy kortykalnej nie ulega depolimeryzacji, ale dalszemu wydłużaniu, co prowadzi do tworzenia wiązek mikrotubul biegnących równolegle w stosunku do korteksu (koniec plus skierowany równolegle do błony komórkowej) lub rzadziej, do „zawijania się” mikrotubul w rejonie kortykalnym (koniec plus skierowany do wnętrza komórki). Obniżenie poziomu kataniny w zdolnych do migracji komórkach D17 prowadzi do wzrostu tempa ruchu, co sugeruje, że katanina, poprzez działanie na dynamikę mikrotubul, może potencjalnie spowalniać ruch komórek [4]. Obecność kataniny w rejonie kortykalnym komórki nie zależy od mikrotubul (ich depolimeryzacja nie wpływała na lokalizację kataniny) ale od obecności filamentów aktynowych. Kortykalnie zlokalizo-

wana katanina ulega rozproszeniu w komórkach traktowanych cytochalazyną [4].

Wydaje się, że w rejonie kortykalnym katanina reguluje dynamikę mikrotubuli przez odcięcie jej końca plus, usuwając w ten sposób wraz z odciętym fragmentem kompleks białek stabilizujących koniec plus, zawierający m.in. białko EB1. Nowopowstały, pozbawiony kompleksu stabilizującego koniec plus mikrotubuli staje się podatny na depolimeryzację zależną od aktywności kinezy-13 (KLP10A) [4,5], która „towarzyszy” końcowi plus mikrotubuli i jest usytuowana przeważnie dalej w stosunku do końca plus mikrotubuli niż białko EB1 [3].

Podobne analizy przeprowadzone na zdolnych do migracji, ludzkich komórkach HS578T pochodzących z raka piersi, wykazały, że klasyczna katanina p60 nie lokalizuje się w rejonie kortykalnym i nie wpływa na tempo ruchu komórek. Natomiast bliski homolog kataniny p60, białko podobne do kataniny, KL1 (KATNAL1) lokalizuje się w brzegu wiodącym migrujących komórek, a obniżenie poziomu KL1 powoduje zmiany podobne do obniżenia poziomu kataniny w komórkach *Drosophila*. Sugeruje to, że przynajmniej w pewnych procesach białko KL1 człowieka może być funkcjonalnym homologiem kataniny p60 *Drosophila* [4]. Badania nad rolą kataniny w rejonie kortykalnym komórek nasuwają dalsze pytania, w tym pytanie o zależność między kataniną a kortykalną aktyną, niezbędną do lokalizacji kataniny w tym obszarze oraz o możliwość wykorzystania kataniny jako potencjalnego celu terapeutycznego w badaniach nad migracją komórek nowotworowych [4].

ROLA BIAŁEK TNĄCYCH MIKROTUBULE W POWSTAWANIU I REORGANIZACJI WRZECIONA PODZIAŁOWEGO

Białka tnące mikrotubule odgrywają ważną rolę w powstawaniu i prawidłowym funkcjonowaniu mejotycznego i mitotycznego wrzeciona podziałowego. W oocytach nicieni oraz kręgowców wrzeciono mejotyczne jest acentriolarne, w odróżnieniu od centriolarnego wrzeciona mitotycznego. Różnice w budowie wrzeciona mejotycznego i mitotycznego sugerują, że mechanizm powstawania obu wrzecion, tj. miejsca polimeryzacji mikrotubul i ich organizacji, jest różny [1].

Większość danych na temat roli kataniny w powstawaniu i funkcjonowaniu wrzeciona mejotycznego otrzymano badając oocyty nicienia *Caenorhabditis elegans*. U *C.elegans* aktywny kompleks kataniny MEI-1/MEI-2 (p60/p80) jest niezbędny do prawidłowego przebiegu mejozy, ale musi zostać inaktywowany i usunięty przed rozpoczęciem pierwszego podziału mitotycznego zarodka. Wrzeciono mejotyczne w oocytach nicienia powstaje przez polimeryzację mikrotubul wokół chromatyny i ich reorganizację. W efekcie prawidłowe wrzeciono nicienia zbudowane jest z krótkich mikrotubul, tworzących gęsto upakowane wiązki [6]. Brak lub inaktywacja kataniny powoduje powstanie wokół chromosomów nieuporządkowanych, długich, krzyżujących się mikrotubul [6,7]. Natomiast obecność enzymu o obniżonej aktywności umożliwia utworzenie dwubiegunowego wrzeciona, ale o mikrotubulach znacznie dłuż-

szych niż w oocytach szczepu dzikiego [7,8]. Szczegółowe badania kompleksu MEI-1/MEI-2 *in vitro* i *in vivo* sugerują, że katanina może wpływać na powstawanie i utrzymanie struktury wrzeciona mejotycznego przez cięcie długich mikrotubul na krótsze fragmenty oraz przecinanie mikrotubul w miejscu ich krzyżowania się [9]. U *C. elegans* katanina jest niezbędna nie tylko do powstania i utrzymania struktury wrzeciona mejotycznego, ale także do przesunięcia wrzeciona w rejon podbłonowy [10].

Katanina oraz białko podobne do fidżetyny-1 odgrywają również rolę w podziale mejotycznym u kręgowców. Samce myszy z punktową mutacją w genie *Katnb1 (Taily)* kodującym podjednostkę regulatorową p80, produkują mniej spermatyd w porównaniu z samcami szczepu dzikiego. W czasie spermatogenezy u samców z mutacją *Taily* tworzone są dłuższe wrzeciona podziałowe, a komórki mogą być zatrzymane w stadium anafazy. Dodatkowo pod koniec podziału obserwuje się przedłużone utrzymywanie mikrotubul wchodzących w skład struktury zwanej ciałkiem środkowym, (ang. *midbody*). Sugeruje to, że katanina kontroluje długość mikrotubul wrzeciona mejotycznego i rozpad mikrotubul ciała środkowego [11]. Rola białka podobnego do fidżetyny-1 w spermatogenezie myszy nie jest jasna, wiadomo jednak, że białko to lokalizuje się w spermatocytach w stadium pachyteny i metafazy I [12].

Rola poszczególnych białek tnących mikrotubule w regulacji dynamiki mikrotubul wrzeciona mitotycznego może być różna w różnych typach organizmów. Na przykład, w czasie rozwoju nicienia *C. elegans* katanina, która odgrywa znaczącą rolę w organizacji wrzeciona podczas mejozy, musi być inaktywowana przed rozpoczęciem pierwszego podziału mitotycznego. Natomiast w komórkach innych organizmów białka tnące mikrotubule, katanina, spastyna i fidżetyna odgrywają ważną rolę w regulacji długości mikrotubul wrzeciona mitotycznego, w tym w skracaniu mikrotubul podczas anafazy A.

W czasie anafazy długość mikrotubul wrzeciona mitotycznego, a w konsekwencji również ruch chromosomów ku biegunom wrzeciona jest regulowany przez: (i) depolimeryzację mikrotubul na końcach minus (w rejonie biegunów wrzeciona), równoważony w czasie metafazy przez polimeryzację na końcach plus (tj. przy kinetochorze chromosomu) (ang. *poleward flow, flux*) od pozornego „przesuwania się” tubuliny w kierunku biegunów wrzeciona) oraz (ii) przez depolimeryzację mikrotubul na końcu plus (nazwaną przez analogię do gry komputerowej – mechanizmem „Pac-Mana”, ang. *Pacman*).

Podczas anafazy A w komórkach S2 muszki owocowej *Drosophila melanogaster* poszczególne białka tnące mikrotubule są zaangażowane w skracanie się mikrotubul wrzeciona podziałowego (ang. *Pacman-flux mechanizm*), ale ich rola nie jest identyczna [13]. Obniżenie poziomu tylko jednego z enzymów tnących mikrotubule nie powoduje znaczących zmian w strukturze wrzeciona, ale prowadzi do wydłużenia czasu trwania podziału, a w przypadku obniżenia poziomu spastyny lub fidżetyny, dodatkowo również do nieznacznego spadku ogólnej masy mikrotubul wrzeciona [13]. Wszystkie trzy białka tnące mikrotubule lokalizują się

w rejonie biegunów wrzeciona i chromosomów, z tym, że tylko katanina jest obecna w rejonie chromosomów przez całą mitozę i kolokalizuje się z kinetochorami niezależnie od mikrotubul [13], natomiast spastyna i fidżetyna lokalizują się w rejonie chromosomów głównie w czasie prometafazy i metafazy. Obniżenie poziomu spastyny lub fidżetyny prowadzi do spadku dynamiki mikrotubul na ich końcach minus oraz w okresie metafazy, również do spadku dynamiki mikrotubul na końcach plus [13]. Sugeruje się, że w okresie anafazy A enzymy te przecinając mikrotubule w rejonie biegunów wrzeciona, odcinają koniec minus mikrotubuli związany ze stabilizującym kompleksem gamma tubuliny, umożliwiając w ten sposób depolimeryzację „uwolnionych” końców minus mikrotubul przez białka z rodziny kinezyn 13, a w efekcie skracanie mikrotubul i przesuwanie chromosomów ku biegunom wrzeciona (ang. *Flux*) [13,14]. Przypuszcza się również, że sama fidżetyna może posiadać aktywność umożliwiającą depolimeryzację końców minus mikrotubul [15]. Również w komórkach kręgowców, w czasie mitozy spastyna [16,17] i fidżetyna [15] lokalizują się na biegunie wrzeciona oraz w rejonie ciała środkowego. Wykazano, że obniżenie poziomu fidżetyny powoduje spadek tempa „przesuwania się” tubuliny w mikrotubulach o około 33% oraz opóźnienie przebiegu anafazy A [15].

W odróżnieniu od spastyny i fidżetyny, mimo, że katanina lokalizuje się w rejonie biegunów wrzeciona w komórkach S2 *Drosophila*, obniżenie jej poziomu nie wpływa na tempo przesuwania się tubuliny w mikrotubulach (ang. *Flux*), ale znacząco obniża tempo przesuwania się chromosomów w kierunku biegunów zależne od depolimeryzacji końców plus mikrotubul (mechanizmu Pac-Mana) [13]. Przypuszcza się, że katanina może odcinać koniec plus mikrotubuli wraz z białkami stabilizującymi, umożliwiając depolimeryzację przez kinezyne 13 [13].

U kręgowców w okresie interfazy katanina lokalizuje się w rejonie centrosomu [18,19,20] i współuczestniczy w generowaniu nowych mikrotubul przez odcinanie istniejących mikrotubul od kompleksów gamma tubuliny. Również w czasie mitozy katanina kolokalizuje się z centrosomami; potencjalnie więc katanina może być jednym z czynników kontrolujących dynamikę mikrotubul wrzeciona mitotycznego. W przeciwieństwie do komórek S2 *Drosophila*, w komórkach ssaków, ani katanina, ani białko podobne do kataniny 1 (KL1), nie kolokalizują się z chromosomami. KL1 lokalizuje się natomiast na biegunach wrzeciona mitotycznego, ale nie wpływa na tempo przesuwania się tubuliny w mikrotubulach w kierunku końca minus (ang. *Flux*) [21]. Obniżenie poziomu białka KL1 powoduje wydłużenie mikrotubul wrzeciona mitotycznego oraz zmniejszenie liczby mikrotubul w rejonie biegunów wrzeciona co sugeruje, że aktywność tnąca KL1 prowadzi do powstania krótkich fragmentów mikrotubul, których wydłużanie, z kolei, prowadzi do wzrostu liczby mikrotubul na biegunach wrzeciona podziałowego [21].

Cytokineza, końcowy etap podziału komórki, musi być ściśle skorelowany w czasie i przestrzeni z podziałem jądra komórkowego. Położenie bruzdy podziałowej i pierścienia akto-miozynowego zależy od położenia mikrotubul wrzeciona centralnego i mikrotubul astralnych [22]. Wrzeciono

centralne powstaje podczas anafazy z niekinetochorowych mikrotubul wrzeciona podziałowego, które w rejonie centralnym zachodzą na siebie tworząc antyrównoległe wiązki. Podczas zaciskania się pierścienia kurczliwego, mikrotubule wrzeciona centralnego wraz z towarzyszącymi białkami tworzą ściśle upakowaną strukturę, tzw. ciało środkowe. Przerwanie ciągłości tych mikrotubul jest niezbędne do rozdziału komórek potomnych. Szereg badań wskazuje, że białka tnące mikrotubule są zlokalizowane w pobliżu mikrotubul ciała środkowego i biorą udział w ich przecinaniu [14,15,23].

UDZIAŁ KATANINY I SPASTYNY W REORGANIZACJI CYTOSZKIELETU NEURONÓW

Prawidłowo różnicująca się komórka nerwowa tworzy szereg wypustek, które przekształcają się w akson i dendryty. Wypustki te w czasie rozwoju ulegają dalszym przemianom, takim jak tworzenie odgałęzień, w przypadku dendrytów – tworzenie kolców dendrytycznych oraz w przypadku aksonów – wycofanie lub degradacja przerosniętych aksonów (a w efekcie tworzenie lub eliminowanie połączeń pomiędzy komórkami) [24]. Katanina i spastyna pełnią istotną rolę w reorganizacji cytoszkieletu mikrotubularnego i są niezbędne do prawidłowego różnicowania się komórek nerwowych. Chociaż oba enzymy posiadają aktywność umożliwiającą przecinanie mikrotubul, ich rola w procesie różnicowania komórek nerwowych jest odmienna, a brak jednego z nich nie jest rekompensowany przez nadmiar drugiego enzymu.

Podczas rozwoju embrionalnego poziom ekspresji genu kataniny w neuronach nie jest stały. W mózgu myszy w okresie wydłużania się aksonów katanina utrzymuje się na wysokim poziomie, natomiast po osiągnięciu przez aksony pełnej długości i stworzeniu połączenia z komórką docelową, poziom kataniny obniża się [25]. Eksperymentalne obniżenie poziomu kataniny w różnicujących neuronach wyizolowanych z hipokampu zarodka szczura spowolnia wydłużanie się aksonów, czemu towarzyszy wzrost liczby mikrotubul związanych z centrosomami oraz wzrost długości tych mikrotubul. Obserwacje te sugerują, że katanina jest zaangażowana w reorganizację cytoszkieletu mikrotubularnego konieczną do wzrostu aksonów, prawdopodobnie przecina i uwalnia mikrotubule z centrosomu oraz tnie je na krótsze fragmenty, które mogą być transportowane do wydłużającego się aksonu. Nadprodukcja kataniny powoduje spadek masy mikrotubul (zależnie od poziomu nadprodukcji), ale tylko nieznacznie wpływa na długość oraz liczbę tworzonych wypustek [25-28].

W przeciwieństwie do kataniny, obniżenie poziomu spastyny w czasie różnicowania się komórek zarodka hipokampu szczura, stosunkowo nieznacznie wpływa na długość samego aksonu, ale za to prowadzi do zmniejszenia liczby odgałęzień aksonów. Natomiast podwyższenie poziomu spastyny powoduje znaczący spadek masy mikrotubul, wzrost liczby tworzonych dendrytów oraz odgałęzień aksonu, podczas gdy długość dendrytów i aksonu nie różni się od długości wypustek nerwowych w komórkach kontrolnych [28]. Wydaje się zatem, że w neuronach ssaków

spastyne odgrywa ważną rolę w tworzeniu odgałęzień wypustek nerwowych.

Mikrotubule w aksonie są bardziej odporne na działanie kataniny niż mikrotubule w dendrytach i ciele komórki. Zwiększona odporność mikrotubul w aksonie związana jest z obecnością białka tau, które „chroni” mikrotubule przed aktywnością kataniny [29]. Wiązanie białka tau do mikrotubul jest regulowane przez poziom jego fosforylacji. Ufosforylowane białko tau odłącza się od mikrotubul odsłaniając miejsca cięcia dla kataniny. Obniżenie poziomu tau w aksonie prowadzi do tworzenia dodatkowych odgałęzień [29]. Zatem zmiany poziomu fosforylacji białka tau w czasie i przestrzeni (a w konsekwencji zmiany w poziomie jego wiązania do mikrotubul), mogą, obok spastyny, wpływać na tworzenie odgałęzień aksonów [28]. Hipotezę tę potwierdzają wyniki badań, w których wykazano, że w hodowanych neuronach hipokampu poddanych działaniu podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF, ang. *basic fibroblast growth factor*) następuje jednoczesny wzrost poziomu ekspresji genów kataniny i spastyny oraz wzrost poziomu fosforylacji białka tau [30]. Odłączenie białka tau od mikrotubul i degradacja mikrotubul są typowe dla tautopatii, w tym dla choroby Alzheimerera. Wydaje się zatem, że katanina może odgrywać ważną rolę w etiologii tych chorób [31].

Mikrotubule w aksonach charakteryzują się również wysokim poziomem acetylacji tubuliny [32]. Jak wykazano w badaniach na fibroblastach katanina preferencyjnie tnie mikrotubule o wyższym poziomie acetylacji. Odporność mikrotubul w aksonach na nadprodukcję kataniny może sugerować, że wysoki poziom acetylacji, który przypuszczalnie wzmacnia aktywność kataniny jest równoważony przez chroniące właściwości białka tau [33].

Wiedza na temat roli białek tnących mikrotubule i regulacji ich aktywności w neuronach jest nadal szczątkowa. Ostatnio pokazano, że stabilność i aktywność kataniny w pewnych komórkach nerwowych myszy jest regulowana przez wielodomenowe białko APC (ang. *adenomatous polyposis coli*) [34], natomiast prawidłowy poziom spastyny w komórkach nerwowych larw *Drosophila* jest niezwykle ważny w regeneracji aksonów [35]. Warto zaznaczyć, że katanina i spastyne nie są jedynymi białkami tnącymi mikrotubule wpływającymi na różnicowanie i funkcjonowanie komórek nerwowych. U *Drosophila* białko podobne do kataniny (Kat-60L1) odgrywa istotną rolę w powstawaniu drzewa dendrytycznego pewnej klasy neuronów [36]. Wydaje się zatem, że pełne zrozumienie roli białek tnących mikrotubule z komórek nerwowych wymaga wielu dalszych badań.

KATANINA W RZĘSKACH

Rzęski to wyspecjalizowane, zbudowane na bazie cytoszkieletu mikrotubularnego organella, które z wyjątkiem grzybów i roślin wyższych występują u niemal wszystkich Eukaryota. Historycznie, ze względu na pełnione funkcje oraz zdolność do poruszania się, wyróżnia się dwa typy rzęsek – nieruchome rzęski pierwotne, odbierające bodźce ze środowiska i przekazujące je do wnętrza komórki oraz rzęski ruchome umożliwiające przesuwanie płynów i wy-

dzielin względem powierzchni komórek [37]. Szkielet rzęski, tzw. aksonema, zbudowana jest z dziewięciu par mikrotubul obwodowych (każda para składa się z pełnej tubuli A i przyłączonej do niej, niepełnej tubuli B), którym w rzęskach ruchomych towarzyszy para mikrotubul centralnych oraz periodycznie przyłączone do powierzchni mikrotubul makrokompleksy: ramiona dyneinowe, promienie łączące i połączenia neksynowe [38]. Badania przeprowadzone na orzęsku *Tetrahymena thermophila* oraz jednokomórkowym glonie, *Chlamydomonas reinhardtii*, wykazały, że zarówno katanina p60 jak i jej białko regulatorowe p80, są niezbędne do utworzenia funkcjonalnych wici i rzęsek ruchomych. Komórki *Chlamydomonas* z mutacją w genach kodującym kataninę p60 (pf19) [39] i białko regulatorowe p80 (pf15) [40] oraz mutanty *Tetrahymena* z delecją (ang. *knock-out*) genów kodujących p60 lub p80 [41], tworzą krótsze, nieruchome wici i rzęski pozbawione pary mikrotubul centralnych. Rola kataniny w powstawaniu pary mikrotubul centralnych wici i rzęsek pozostaje nieznaną. Pomimo że katanina jest niezbędna do tworzenia pary mikrotubul centralnych, zarówno katanina p60, jak i białko regulatorowe p80, lokalizują się jedynie w rejonie mikrotubul par obwodowych. Wykazano również, że białko regulatorowe p80 jest obecne w wiciach mutantów PF20 *Chlamydomonas*, pozbawionych mikrotubul centralnych [40]. Być może katanina odcina krótkie fragmenty mikrotubul obwodowych dostarczając prekursorów tubuliny do budowy mikrotubul pary centralnej.

Z kolei, nadprodukcja kataniny w komórkach *Tetrahymena* powoduje rozpad tubul B par obwodowych, podczas gdy tubule A i mikrotubule pary centralnej są bardziej odporne na działanie tego enzymu [41]. Różnice w odporności poszczególnych typów mikrotubul w rzęsce na podwyższony poziom kataniny mogą wynikać z różnic w poziomie modyfikacji potranslacyjnych tubuliny w tych mikrotubulach. W porównaniu z tubulami A par obwodowych i mikrotubulami pary centralnej, tubulina w tubulach B jest silnie glutamylowana [42-44], co może powodować wydajniejsze wiązanie kataniny [45].

W 2014 roku opublikowano badania nad regeneracją wici *Chlamydomonas* [46], które wskazują na potencjalną zależność pomiędzy aktywnością kataniny a regulacją długości rzęsek i wici. W oparciu o te analizy, wydaje się, że tworzenie krótszych wici i rzęsek nie jest związane z aktywnością kataniny wewnątrz tych organelli, ale w cytoplazmie komórek. W przypadku utraty wici białka rzęskowe obecne w cytoplazmie komórek *Chlamydomonas*, wystarczają do „odbudowy” fragmentu wici, odpowiadającego około połowie długości normalnej wici, natomiast odtworzenie wici o pełnej długości wymaga syntezy nowych białek [47]. W przypadku tubuliny, pula wolnych heterodimerów potrzebnych do odbudowy wici może być tworzona nie tylko na drodze syntezy, ale również poprzez depolimeryzację dynamicznych mikrotubul cytoplazmatycznych przez kinezyne-13 [48] oraz ich cięcie i rozpad pod wpływem cytoplazmatycznej kataniny [46]. Sugeruje się, że w czasie regeneracji wici mikrotubule aksonemy konkurują z mikrotubulami cytoplazmatycznymi o dostępną pulę wolnych heterodimerów tubuliny [46]. Zatem brak funkcjonalnej kataniny w cytoplazmie komórki powodowałaby zmniejszenie puli wolnych heterodimerów tubuliny i w efekcie - tworzenie krótszych

rzęsek lub wici. Wyniki powyższych badań nie tłumaczą jednak braku mikrotubul pary centralnej w rzęskach mutantów kataniny.

W komórkach *Chlamydomonas* i *Tetrahymena* katanina p60 lokalizuje się również w rejonie ciałek podstawowych oraz w strefie przejściowej między wicią a ciałkiem podstawowym [41,49]. Obecność p60 w rejonie przejściowym wici sugerowała udział kataniny w procesie odcinania wici [49-51] jednak ostatnie analizy mutantów p60 i p80 *Chlamydomonas* [39] wykazały, że pod wpływem stresu komórki pozbawione funkcjonalnej kataniny tracą więc podobnie jak komórki szczepu dzikiego.

Podjednostka regulatorowa kataniny, białko p80, odgrywa również rolę w biogenezie rzęsek pierwotnych. Mysie fibroblasty pozbawione białka p80 tworzą liczne dodatkowe centriole matczyne, z których każda ma zdolność do przemiany w ciało podstawowe i utworzenia rzęski pierwotnej [52]. Autorzy sugerują jednak, że w tym przypadku białko p80 może działać autonomicznie, niezależnie od białka p60 i cięcia mikrotubul.

ROLA BIAŁEK TNĄCYCH MIKROTUBULE W REORGANIZACJI CYTOSZKIELETU W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

W komórkach roślinnych mikrotubule odgrywają kluczową rolę nie tylko w transporcie wewnątrzkomórkowym i podziale komórki, ale również w tworzeniu ściany komórkowej i morfogenezie. Prawidłowy przebieg tych procesów wymaga powstania specyficznych struktur mikrotubularnych. Cięcie istniejących mikrotubul, a następnie ich reorientacja i dalsza polimeryzacja lub degradacja są ważnymi elementami w reorganizacji cytoszkieletu mikrotubularnego.

W genomie rzodkiewnika *Arabidopsis thaliana* (i w zsekwencjonowanych genomach innych roślin) zidentyfikowano jeden gen kodujący kataninę p60 oraz kilka genów kodujących podjednostkę regulatorową p80 (cztery w genomie rzodkiewnika, trzy w genomie ryżu siewnego *Oryza sativa*) [53,54]. Rośliny z mutacjami kataniny są karłowate, a ich organy są krótsze w porównaniu do organów roślin dzikich. Badania stożka wzrostu korzeni rzodkiewnika wykazały, że w mutantach kataniny komórki w strefie wzrostu są nieco „niższe” i „szersze” w porównaniu z komórkami szczepu dzikiego oraz, że ściana komórkowa pomiędzy komórkami potomnymi może być ustawiona skośnie w stosunku do osi korzenia. Wskazuje to, że w czasie podziału komórek mutantu kataniny dochodzi do niewłaściwego pozycjonowania struktur odpowiedzialnych za powstanie przegrody pomiędzy komórkami potomnymi [55]. Jaką zatem rolę pełni katanina w czasie podziału? Czy jest ona taka sama jak w komórkach zwierzęcych? Dzielące się komórki roślinne budują trzy struktury, w skład których wchodzi mikrotubule: pierścień preprofazowy, wrzeciono podziałowe i fragmoplast. W przeciwieństwie do komórek zwierzęcych, katanina nie wpływa na dynamikę mikrotubul wrzeciona podziałowego w czasie metafazy i anafazy, a jej brak powoduje jedynie przejściowo tworzenie wielobiegunowego wrzeciona profazowego. Katanina wpływa natomiast na re-

organizację mikrotubul pierścienia preprofazowego i fragmoplastu [55,56].

Pierścień preprofazowy, powstaje pod koniec fazy G2 (preprofaza) i utrzymuje się do prometafazy. Zbudowany jest m. in. z równoległe ułożonych mikrotubul, tworzących „pas” na wysokości równika przyszłego wrzeciona podziałowego. W dzielących się komórkach merystematycznych z korzeni mutantów kataniny, mikrotubule pierścienia preprofazowego są mniej uporządkowane, a nawet krzyżujące się. Dodatkowo dezintegracja pierścienia jest opóźniona w porównaniu do komórek szczepu dzikiego [55]. Zatem katanina bierze udział zarówno w uorganizowaniu mikrotubul pierścienia preprofazowego w wiązkę równoległe biegnących struktur jak i jego dezintegracji.

W czasie telofazy, pomiędzy dwoma jądrami potomnymi powstaje fragmoplast, zbudowany między innymi z krótkich, nie sięgających powierzchni jąder, równoległe biegnących mikrotubul, położonych prostopadle w stosunku do powstającej przegrody pierwotnej. W komórkach mutantów kataniny, mikrotubule fragmoplastu są dłuższe, połączone z powierzchnią nowopowstałych jąder i lekko wygięte w ich kierunku [55]. Ponieważ mikrotubule każdej z połówek fragmoplastu mają końce minus skierowane ku powierzchni jądra, a końce plus ku powstającej przegrodzie pierwotnej [57], uważa się, że katanina przecina mikrotubule fragmoplastu w pobliżu ich końca minus, „uwalniając” je i umożliwiając ich skracanie w wyniku aktywności samej kataniny lub innych białek regulujących dynamikę mikrotubul.

W komórkach roślinnych mikrotubule wpływają również na tworzenie ściany komórkowej, a w konsekwencji na procesy morfogenezy. Mikrotubule znajdujące się w rejonie korykalnym komórki, tzw. mikrotubule korykalne, wyznaczają sposób odkładania mikrofibryli celulozy budujących ściany komórkowe [58]. Zaburzenia w reorganizacji mikrotubul prowadzą do zmian w ukierunkowanym wzroście i kształcie komórek i w efekcie wpływają na morfogenezę roślin.

W jaki sposób powstają nowe mikrotubule korykalne i jakie czynniki decydują o ich ułożeniu? W komórkach interfazowych ułożenie mikrotubul korykalnych różni się zależnie od typu komórek. W komórkach skórki liści zarodka rzodkiewnika mikrotubule korykalne tworzą sieć wzajemnie krzyżujących się filamentów (sieciovym układ mikrotubul), natomiast w sąsiadujących z nimi komórkach skórki ogonka liści i komórkach hypokotylu (części podliściennicowej) mikrotubule korykalne są uporządkowane w równoległe wiązki [59]. Podobnie, w komórkach stożka wzrostu korzenia, mikrotubule korykalne tworzą sieć, natomiast w strefie wydłużania się mikrotubule są ułożone w regularne, równoległe biegnące wiązki, co umożliwia ukierunkowany wzrost komórek. Ze względu na różnice w ułożeniu mikrotubul korykalnych w poszczególnych typach komórek, zarodki i młode siewki rzodkiewnika są doskonałym modelem do badań nad mechanizmami regulującymi organizację mikrotubul korykalnych – tworzeniem sieciowego lub równoległego uporządkowania mikrotubul oraz badań nad reorganizacją mikrotubul prowadzącą do zmiany w ich

organizacji, z sieciowego na uporządkowane (np. podczas przemiany komórek dzielących się w komórki wydłużające w czasie wzrostu korzenia).

Dotychczasowe obserwacje wskazują, że nowe mikrotubule korykalne powstają bądź jako odgałęzienia na już istniejących mikrotubulach bądź przez przecinanie (fragmentację) i dalszą polimeryzację już istniejących mikrotubul, przy czym, zależnie od typu komórki, jeden z tych mechanizmów może przeważać nad drugim [60,61,62]. W komórkach hypokotyli (tworzących uporządkowane, równoległe biegnące względem siebie mikrotubule korykalne), większość nowych mikrotubul korykalnych powstaje jako odgałęzienia na już istniejących mikrotubulach. Proces ten jest inicjowany przez przejściowe przyłączenie do powierzchni istniejącej mikrotubuli kompleksu gamma-tubuliny, który pełni rolę matrycy podczas polimeryzacji nowej mikrotubuli. Powstająca mikrotubula ma koniec plus skierowany w tym samym kierunku co mikrotubula, na której powstaje i jest najczęściej (w około 65% przypadków) odchyłona w stosunku do niej o około 40 stopni, rzadziej (około 33% przypadków) – równoległa do niej [60,63,64]. Nowopowstałe mikrotubule są odcinane przez kataninę i po „uwolnieniu” przesuwają się dzięki polimeryzacji na końcu plus i depolimeryzacji na końcu minus (ang. *treadmilling*) tworząc wiązki [64].

Nowe mikrotubule korykalne mogą być tworzone również przez przecinanie już istniejących mikrotubul w miejscach ich krzyżowania się [65]. Polimeryzujące lub przesuwane mikrotubule mogą „napotykać” swoimi końcami plus istniejące („stare”) mikrotubule korykalne i dalej wydłużając się – mogą się z nimi krzyżować. Katanina rozpoznaje miejsca kontaktu krzyżujących się mikrotubul i przecina nową „nachodzącą” mikrotubulę w miejscu „skrzyżowania”, umożliwiając jej przesunięcie oraz polimeryzację na „odśloniętym” przez przecięcie końcu plus, prowadząc w ten sposób do amplifikacji mikrotubul [59,65,66]. Wykazano również, że katanina preferencyjnie wiąże się i przecina mikrotubule, które pozostawały w kontakcie przez dłuższy czas, co sugeruje, że takie „skrzyżowanie” mikrotubul może funkcjonować nie tylko jako regulator miejsca, ale także czasu przecinania mikrotubul [66]. Porównanie częstości cięcia krzyżujących się mikrotubul wykazało, że proces ten jest około 100 razy częściej obserwowany, a czas do przecięcia znacznie krótszy w wydłużonych komórkach hypokotyli tworzących równoległe wiązki mikrotubul korykalnych niż w komórkach skórki liścienia o sieciowym układzie mikrotubul [66]. W komórkach hypokotyli rzodkiewnika z mutacją kataniny, mikrotubule korykalne tworzą nieregularną sieć [56,65,66], co wskazuje, że w przypadku komórek o uporządkowanym układzie mikrotubul korykalnych, przecinanie, a następnie depolimeryzacja mikrotubul krzyżujących się z już istniejącymi mikrotubulami, jest jednym ze sposobów na utrzymanie regularnego równoległego ułożenia wiązek tych struktur [66].

Miejsca krzyżowania się mikrotubul w pewnych typach komórek mogą być „chronione” przed aktywnością kataniny. Jednym z białek „chroniących” miejsce kontaktu mikrotubul może być białko SPR2. Komórki skórki z liścienia mutantu *spr2* tworzą równoległe uporządkowane mikrotu-

bule korykalne zamiast sieci mikrotubul [65]. Białko SPR2 lokalizuje się wzdłuż mikrotubul, na ich końcach plus oraz szczególnie w miejscu krzyżowania się mikrotubul korykalnych [67] i występuje zarówno w komórkach tworzących równoległe (skórka ogonka liścienia) jak i sieciowo (skórka liścienia) ułożone mikrotubule korykalne. Jednak o ile w komórkach skórki liścienia SPR2 gromadzi się głównie w miejscu krzyżowania się mikrotubul, to w komórkach ogonka liścienia jest zlokalizowane bardziej jednolicie wzdłuż mikrotubul [65]. Dodatkowo w komórkach ogonka SPR2 wiąże się mniej stabilnie z miejscem krzyżowania się mikrotubul, „odsłaniając” miejsca cięcia dla kataniny [65]. Zatem stabilność wiązania białka SPR2, a w efekcie przedłużona ochrona przed aktywnością kataniny, jest jednym z czynników wpływających na układ mikrotubul korykalnych [65].

Reorganizacja cytoszkieletu korykalnego jest jednym z elementów koniecznych do prawidłowego przebiegu morfogenezy i odpowiedzi na bodźce środowiska. Ostatnio wykazano, że zmiana orientacji mikrotubul korykalnych w komórkach hypokotyli pod wpływem niebieskiego światła (i pobudzenia fotoreceptorów, tzw. fototropin) również związana jest ze wzrostem aktywności kataniny [61].

Do reorganizacji mikrotubul korykalnych dochodzi również pod wpływem hormonów roślinnych. Auksyny, wiążąc się z receptorem powierzchniowym, aktywują białko ROP6 należące do rodziny małych GTPaz Rho, które z kolei pobudza białko efektorowe RIC1. Z kolei białko RIC1 oddziałuje z kataniną p60, nasilając odcinanie mikrotubul korykalnych powstających jako boczne odgałęzienia na już istniejących mikrotubulach [68], co w efekcie prowadzi do powstania uporządkowanych wiązek mikrotubul.

Białka tnące mikrotubule odgrywają kluczową rolę w prawidłowym przebiegu wielu różnorodnych procesów komórkowych, przy czym wpływ ich aktywności na reorganizację cytoszkieletu mikrotubularnego zależy od specyficznego kontekstu komórkowego w danym kompartmentie lub typie komórki. Bez wątplenia dogłębne zrozumienie mechanizmu molekularnego regulującego aktywność białek tnących mikrotubule wymaga dalszych intensywnych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Ribbeck K, Mitchison TJ (2006) Meiotic spindle: sculpted by severing. *Curr Biol* 16: R923-R925
2. Roll-Mecak A, McNally FJ (2010) Microtubule-severing enzymes. *Curr Opin Cell Biol* 22: 96-103
3. Mennella V, Rogers GC, Rogers SL, Buster DW, Vale RD, Sharp DJ (2005) Functionally distinct kinesin-13 family members cooperate to regulate microtubule dynamics during interphase. *Nat Cell Biol* 7: 235-245
4. Zhang D, Grode KD, Stewman SF, Diaz-Valencia JD, Liebling E, Rath U, Riera T, Currie JD, Buster DW, Asenjo AB, Sosa HJ, Ross JL, Ma A, Rogers SL, Sharp DJ (2011) *Drosophila* katanin is a microtubule depolymerase that regulates cortical-microtubule plus-end interactions and cell migration. *Nat Cell Biol* 13: 361-370
5. Sharp DJ, O'Rourke B, Zhang D (2012) Microtubules cut loose at the cell cortex. *Fly (Austin)* 6: 12-15
6. Srayko M, O'toole ET, Hyman AA, Müller-Reichert T (2006) Katanin disrupts the microtubule lattice and increases polymer number in *C. elegans* meiosis. *Curr Biol* 16: 1944-1949

7. McNally KP, McNally FJ (2011) The spindle assembly function of *Caenorhabditis elegans* katanin does not require microtubule-severing activity. *Mol Biol Cell* 22: 1550-1560
8. McNally K, Audhya A, Oegema K, McNally FJ (2006) Katanin controls mitotic and meiotic spindle length. *J Cell Biol* 175: 881-891
9. McNally K, Berg E, Cortes DB, Hernandez V, Mains PE, McNally FJ (2014) Katanin maintains meiotic metaphase chromosome alignment and spindle structure in vivo and has multiple effects on microtubules *in vitro*. *Mol Biol Cell* 25: 1037-1049
10. Yang HY, McNally K, McNally FJ (2003) MEI-1/katanin is required for translocation of the meiosis I spindle to the oocyte cortex in *C. elegans*. *Dev Biol* 260: 245-259
11. O'Donnell L, Rhodes D, Smith SJ, Merriner DJ, Clark BJ, Borg C, Whittle B, O'Connor AE, Smith LB, McNally FJ, De Kretser DM, Goodnow CC, Ormandy CJ, Jamsai D, O'Bryan MK, Ogura T (2012) An essential role for katanin p80 and microtubule severing in male gamete production. *PLoS Genet* 8: e1002698
12. L'Hôte D, Vatin M, Auer J, Castille J, Passet B, Montagutelli X, Serres C, Vaiman D (2011) Fidgetin-like1 is a strong candidate for a dynamic impairment of male meiosis leading to reduced testis weight in mice. *PLoS One* 6: e27582
13. Zhang D, Rogers GC, Buster DW, Sharp DJ (2007) Three microtubule severing enzymes contribute to the "Pacman-flux" machinery that moves chromosomes. *J Cell Biol* 177: 231-242
14. Sharp DJ, Ross JL (2012) Microtubule-severing enzymes at the cutting edge. *J Cell Sci* 125: 2561-2569
15. Mukherjee S, Diaz Valencia JD, Stewman S, Metz J, Monnier S, Rath U, Asenjo AB, Charafeddine RA, Sosa HJ, Ross JL, Ma A, Sharp DJ (2012) Human Fidgetin is a microtubule severing enzyme and minus-end depolymerase that regulates mitosis. *Cell Cycle* 11: 2359-2366
16. Errico A, Claudiani P, D'addio M, Rugarli EI (2004) Spastin interacts with the centrosomal protein NA14, and is enriched in the spindle pole, the midbody and the distal axon. *Hum Mol Genet* 13: 2121-2132
17. Svenson IK, Kloos MT, Jacon A, Gallione C, Horton AC, Pericak-Vance MA, Ehlers MD, Marchuk DA (2005) Subcellular localization of spastin: implications for the pathogenesis of hereditary spastic paraplegia. *Neurogenetics* 6: 135-141
18. McNally FJ, Okawa K, Iwamatsu A, Vale RD (1996) Katanin, the microtubule-severing ATPase, is concentrated at centrosomes. *J Cell Sci* 109: 561-577
19. Hartman JJ, Mahr J, McNally K, Okawa K, Iwamatsu A, Thomas S, Cheesman S, Heuser J, Vale RD, McNally FJ (1998) Katanin, a microtubule-severing protein, is a novel AAA ATPase that targets to the centrosome using a WD40-containing subunit. *Cell* 93: 277-287
20. McNally FJ, Thomas S (1998) Katanin is responsible for the M-phase microtubule-severing activity in *Xenopus* eggs. *Mol Biol Cell* 9: 1847-1861
21. Sonbuchner TM, Rath U, Sharp DJ (2010) KL1 is a novel microtubule severing enzyme that regulates mitotic spindle architecture. *Cell Cycle* 9: 2403-2411
22. Glotzer M (2005) The molecular requirements for cytokinesis. *Science* 307: 1735-1739
23. Matsuo M, Shimodaira T, Kasama T, Hata Y, Echigo A, Okabe M, Arai K, Makino Y, Niwa S, Saya H, Kishimoto T (2013) Katanin p60 contributes to microtubule instability around the midbody and facilitates cytokinesis in rat cells. *PLoS One* 8: e80392
24. Luo L, O'Leary DD (2005) Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci* 28: 127-156
25. Karabay A, Yu W, Solowska JM, Baird DH, Baas PW (2004) Axonal growth is sensitive to the levels of katanin, a protein that severs microtubules. *J Neurosci* 24: 5778-5788
26. Ahmad FJ, Yu W, McNally FJ, Baas PW (1999) An essential role for katanin in severing microtubules in the neuron. *J Cell Biol* 145: 305-315
27. Yu W, Solowska JM, Qiang L, Karabay A, Baird D, Baas PW (2005) Regulation of microtubule severing by katanin subunits during neuronal development. *J Neurosci* 25: 5573-5583
28. Yu W, Qiang L, Solowska JM, Karabay A, Korulu S, Baas PW (2008) The microtubule severing proteins spastin and katanin participate differently in the formation of axonal branches. *Mol Biol Cell* 19: 1485-1498
29. Qiang L, Yu W, Andreadis A, Luo M, Baas PW (2006) Tau protects microtubules in the axon from severing by katanin. *J Neurosci* 26: 3120-3129
30. Qiang L, Yu W, Liu M, Solowska JM, Baas PW (2010) Basic fibroblast growth factor elicits formation of interstitial axonal branches via enhanced severing of microtubules. *Mol Biol Cell* 21: 334-444
31. Sudo H, Baas PW (2011) Strategies for diminishing katanin-based loss of microtubules in tauopathic neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet* 20: 763-778
32. Fukushima N, Furuta D, Hidaka Y, Moriyama R, Tsujiuchi T (2009) Post-translational modifications of tubulin in the nervous system. *J Neurochem* 109: 683-693
33. Sudo H, Baas PW (2010) Acetylation of microtubules influences their sensitivity to severing by katanin in neurons and fibroblasts. *J Neurosci* 30: 7215-7226
34. Eom TY, Stanco A, Guo J, Wilkins G, Deslauriers D, Yan J, Monckton C, Blair J, Oon E, Perez A, Salas E, Oh A, Ghukasyan V, Snider WD, Rubenstein JL, Anton ES (2014) Differential regulation of microtubule severing by APC underlies distinct patterns of projection neuron and interneuron migration. *Dev Cell* 31: 677-689
35. Stone MC, Rao K, Gheres KW, Kim S, Tao J, La Rochelle C, Folker CT, Sherwood NT, Rolls MM (2012) Normal spastin gene dosage is specifically required for axon regeneration. *Cell Rep* 2: 1340-1350
36. Stewart A, Tsubouchi A, Rolls MM, Tracey WD, Sherwood NT (2012) Katanin p60-like1 promotes microtubule growth and terminal dendrite stability in the larval class IV sensory neurons of *Drosophila*. *J Neurosci* 32: 11631-11642
37. Pedersen LB, Schröder JM, Satir P, Christensen ST (2012) The ciliary cytoskeleton. *Compr Physiol* 2: 779-803
38. Nicastro D, Schwartz C, Pierson J, Gaudette R, Porter ME, McIntosh JR (2006) The molecular architecture of axonemes revealed by cryoelectron tomography. *Science* 313: 944-948
39. Dymek EE, Smith EF (2012) PF19 encodes the p60 catalytic subunit of katanin and is required for assembly of the flagellar central apparatus in *Chlamydomonas*. *J Cell Sci* 125: 3357-3366
40. Dymek EE, Lefebvre PA, Smith EF (2004) PF15p is the *Chlamydomonas* homologue of the Katanin p80 subunit and is required for assembly of flagellar central microtubules. *Eukaryot Cell* 3: 870-879
41. Sharma N, Bryant J, Wloga D, Donaldson R, Davis RC, Jerka-Dziadosz M, Gaertig J (2007) Katanin regulates dynamics of microtubules and biogenesis of motile cilia. *J Cell Biol* 178: 1065-1079
42. Lechtreck KF, Geimer S. (2000) Distribution of polyglutamylated tubulin in the flagellar apparatus of green flagellates. *Cell Motil Cytoskeleton* 47: 219-235
43. Kubo T, Yanagisawa HA, Yagi T, Hirono M, Kamiya R (2010) Tubulin polyglutamylation regulates axonemal motility by modulating activities of inner-arm dyneins. *Curr Biol* 20: 441-445
44. Suryavanshi S, Eddé B, Fox LA, Guerrero S, Hard R, Hennessey T, Kabi A, Malison D, Pennock D, Sale WS, Wloga D, Gaertig J (2010) Tubulin glutamylation regulates ciliary motility by altering inner dynein arm activity. *Curr Biol* 20: 435-440
45. Lacroix B, Van Dijk J, Gold ND, Guizzetti J, Aldrian-Herrada G, Rogowski K, Gerlich DW, Janke C (2010) Tubulin polyglutamylation stimulates spastin-mediated microtubule severing. *J Cell Biol* 189: 945-954
46. Kannegaard E, Rego EH, Schuck S, Feldman JL, Marshall WF (2014) Quantitative analysis and modeling of katanin function in flagellar length control. *Mol Biol Cell* 25: 3686-3698
47. Rosenbaum JL, Moulder JE, Ringo DL (1969) Flagellar elongation and shortening in *Chlamydomonas*. The use of cycloheximide and colchicine to study the synthesis and assembly of flagellar proteins. *J Cell Biol* 41: 600-619

48. Wang L, Piao T, Cao M, Qin T, Huang L, Deng H, Mao T, Pan J (2013) Flagellar regeneration requires cytoplasmic microtubule depolymerization and kinesin-13. *J Cell Sci* 126: 1531-1540
49. Lohret TA, Zhao L, Quarmby LM (1999) Cloning of *Chlamydomonas* p60 katanin and localization to the site of outer doublet severing during deflagellation. *Cell Motil Cytoskeleton* 43: 221-231
50. Rasi MQ, Parker JD, Feldman JL, Marshall WF, Quarmby LM (2009) Katanin knockdown supports a role for microtubule severing in release of basal bodies before mitosis in *Chlamydomonas*. *Mol Biol Cell* 20: 379-388
51. Parker JD, Hilton LK, Diener DR, Rasi MQ, Mahjoub MR, Rosenbaum JL, Quarmby LM (2010) Centrioles are freed from cilia by severing prior to mitosis. *Cytoskeleton (Hoboken)* 67: 425-430
52. Hu WF, Pomp O, Ben-Omran T, Kodani A, Henke K, Mochida GH, Yu TW, Woodworth MB, Bonnard C, Raj GS, Tan TT, Hamamy H, Masri A, Shboul M, Al Saffar M, Partlow JN, Al-Dosari M, Alazami A, Alowain M, Alkuraya FS, Reiter JF, Harris MP, Reversade B, Walsh CA (2014) Katanin p80 regulates human cortical development by limiting centriole and cilia number. *Neuron* 84: 1240-1257
53. Wan L, Wang X, Li S, Hu J, Huang W, Zhu Y (2014) Overexpression of OsKTN80a, a katanin P80 ortholog, caused the repressed cell elongation and stalled cell division mediated by microtubule apparatus defects in primary root in *Oryza sativa*. *J Integr Plant Biol* 56: 622-634
54. Burk DH, Zhong R, Ye ZH (2007) The Katanin Microtubule Severing Protein in Plants. *J Integr Plant Biol* 49: 1174-1182
55. Panteris E, Adamakis ID, Voulgari G, Papadopoulou G (2011) A role for katanin in plant cell division: microtubule organization in dividing root cells of *fra2* and *lue1* *Arabidopsis thaliana* mutants. *Cytoskeleton (Hoboken)* 68: 401-413
56. Burk DH, Liu B, Zhong R, Morrison WH, Ye ZH (2001) A katanin-like protein regulates normal cell wall biosynthesis and cell elongation. *Plant Cell* 13: 807-827
57. Euteneuer U, McIntosh JR (1980) Polarity of midbody and phragmoplast microtubules. *J Cell Biol* 87: 509-515
58. Baskin TI (2001) On the alignment of cellulose microfibrils by cortical microtubules: a review and a model. *Protoplasma* 215: 150-171
59. Wightman R, Turner SR (2007) Severing at sites of microtubule crossover contributes to microtubule alignment in cortical arrays. *Plant J* 52: 742-751
60. Chan J, Sambade A, Calder G, Lloyd C (2009) *Arabidopsis* cortical microtubules are initiated along, as well as branching from, existing microtubules. *Plant Cell* 21: 2298-2306
61. Lindeboom JJ, Nakamura M, Hibbel A, Shundyak K, Gutierrez R, Ketelaar T, Emons AM, Mulder BM, Kirik V, Ehrhardt DW (2013) A mechanism for reorientation of cortical microtubule arrays driven by microtubule severing. *Science* 342: 1245533
62. Nakamura M (2015) Microtubule nucleating and severing enzymes for modifying microtubule array organization and cell morphogenesis in response to environmental cues. *New Phytologist* 205: 1022-1027
63. Murata T, Sonobe S, Baskin TI, Hyodo S, Hasezawa S, Nagata T, Hori T, Haseb M (2005) Microtubule-dependent microtubule nucleation based on recruitment of gamma-tubulin in higher plants. *Nature Cell Biology* 7: 961-968
64. Nakamura M, Ehrhardt DW, Hashimoto T (2010) Microtubule and katanin-dependent dynamics of microtubule nucleation complexes in the acenrosomal *Arabidopsis* cortical array. *Nat Cell Biol* 12: 1064-1070
65. Wightman R, Chomicki G, Kumar M, Carr P, Turner SR (2013) SPIRAL2 determines plant microtubule organization by modulating microtubule severing. *Curr Biol* 23: 1902-1907
66. Zhang Q, Fishel E, Bertrache T, Dixit R (2013) Microtubule severing at crossover sites by katanin generates ordered cortical microtubule arrays in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 23: 2191-2195
67. Yao M, Wakamatsu Y, Itoh TJ, Shoji T, Hashimoto T (2008) *Arabidopsis* SPIRAL2 promotes uninterrupted microtubule growth by suppressing the pause state of microtubule dynamics. *J Cell Sci* 121: 2372-2381
68. Lin D, Cao L, Zhou Z, Zhu L, Ehrhardt D, Yang Z, Fu Y (2013) Rho GTPase signaling activates microtubule severing to promote microtubule ordering in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 23: 290-297

Role of microtubule severing proteins in cytoskeleton reorganization

Ewa Waclawek, Dorota Włoga 

Laboratory of Cytoskeleton and Cilia Biology, Department of Cell Biology, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, 3 Pasteur St., 02-093 Warsaw, Poland

✉e-mail: d.wloga@nencki.gov.pl

Key words: microtubule severing proteins, katanin, spastin, fidgetin, microtubules

ABSTRACT

ATP-dependent severing activity of microtubule severing proteins leads to the local destabilization of the microtubule structure and causes shortening or disassembly of the existing microtubules or formation of the numerous short microtubule fragments that serve as templates during new microtubule polymerization. Microtubule severing protein-dependent rearrangement of the microtubular cytoskeleton plays an important role in the numerous cellular processes including chromosome segregation during meiosis and mitosis, cells migration, dendrites and axon formation, cilia assembly and arrangement of the cortical microtubules in plant cells.