

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů (B-MOBIBO)



**Eliška Altschmiedová**

Jaderný aktin a jeho role v buněčných procesech a virové infekci  
Nuclear actin and its role in cellular processes and virus infection

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: Boris Rjabčenko, Ph.D.

Praha, 2025

Práce vznikla za podpory:

„Projekt Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103)  
– Financováno Evropskou unií – Next Generation EU. “

This work was supported by:

„The project National Institute of virology and bacteriology (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5103) - Funded by the European Union – Next Generation EU. “

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29.04.2025

Eliška Altschmiedová

**Poděkování:**

Děkuji svému školiteli, Borisi Rjabčenkovi, Ph.D., za jeho pomoc a cenné rady při zpracování této bakalářské práce.

**Abstrakt:**

Jaderný aktin patří mezi základní složky jaderného cytoskeletu buněk, kde se nachází v různých formách, a podílí se zde na zásadních jaderných procesech, jako je transkripce, remodelace chromatinu, oprava DNA, remodelace replikačních vidliček či prodlužování telomer a jejich přesun v replikačním stresu. Tato bakalářská práce se zaměřuje nejen na funkce jaderného aktinu v těchto procesech, ale také na jeho interakce s viry replikujícími se v jádře, které využívají jaderný aktin při určitých fázích svého životního cyklu. Práce shrnuje současné poznatky o tom, jak viry, konkrétně zástupci z čeledí herpesvirů, bakulovirů, retrovirů a adenovirů, ovlivňují dynamiku jaderného aktinu a jak aktin napomáhá jejich replikaci, morfogenezi nukleokapsid či transportu a uvolnění kapsid z jádra.

Klíčová slova: jaderný aktin, herpesviry, bakuloviry, retroviry, adenoviry

**Abstract:**

Nuclear actin is one of the key components of the nucleocytoskeleton, where it exists in various forms, and participates in essential nuclear processes such as transcription, chromatin remodeling, DNA repair, replication fork remodeling or telomere elongation and their relocation during replication stress. This thesis focuses not only on the functions of nuclear actin in these cellular processes but also on its interactions with viruses that replicate in the nucleus and exploit nuclear actin during specific stages of their life cycle. The thesis summarizes current knowledge on how viruses, specifically representatives of the families herpesviruses, baculovirus, retroviruses and adenoviruses, influence nuclear actin dynamics and how actin contributes to their replication, nucleocapsid morphogenesis, and transport and release of capsids from the nucleus.

Key words: nuclear actin, herpesviruses, baculoviruses, retroviruses, adenoviruses

## Seznam zkratek

AcMNPV	Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus / Multinukleopolyhedrový virus Autographa californica
ATP	Adenosine triphosphate / Adenosintrifosfát
ATPáza	Adenosine-5'-triphosphate hydrolase / Adenosin-5'-trifosfát hydroláza
Arp	Actin-related protein / Protein příbuzný aktinu
Arp2/3	Actin related protein 2/3 complex / Komplex aktin-příbuzných proteinů 2 a 3
BAF	BRG1-or-BRM-associated factor / Faktor asociovaný s BRG1 nebo BRM
BRG1	Brahma-related gene 1 / Gen příbuzný Brahma 1
BDM	2,3-butanedione monoxime / 2,3-butandion monoxim
BV	Budded virus / Virus vzniklý pučením
CRM1	Chromosomal region maintenance 1 / Protein údržby chromozomové oblasti 1
CTD	C-terminal domain / C-terminální doména
CTE	Constitutive transport element / Konstitutivní transportní element
DMSO	Dimethyl sulfoxide / Dimethylsulfoxid
DSB	Double-strand DNA break / Dvouřetězcový zlom DNA
EBV	Epstein-Barr virus / Virus Epstein-Barrové
eIF-5A	Eukaryotic initiation factor 5A / Eukaryotický iniciační faktor 5A
ER $\alpha$	Estrogen receptor $\alpha$ / Estrogenový receptor $\alpha$
EYFP	Enhanced yellow fluorescent protein / Vylepšený žlutý fluorescenční protein
F-aktin	Filamentous actin / Filamentární aktin
FRAP	Fluorescence recovery after photobleaching / Obnovení fluorescence po fotovybělení
G-aktin	Globular actin / Globulární, monomerní aktin
GDP	Guanosine diphosphate / Guanosindifosfát
GFP	Green fluorescent protein / Zelený fluorescenční protein
GTP	Guanosin triphosphate / Guanosintrifosfát
GTPáza	Guanosine-5'-triphosphate hydrolase / Guanosin-5'-trifosfát hydroláza
HATs	Histone acetyltransferases / Histon acetyltransferázy

HCMV	Human cytomegalovirus / Lidský cytomegalovirus
HDAC 1/2	Histone deacetylase 1/2 / Histon deacetyláza 1/2
HIV-1	Human immunodeficiency virus 1 / Virus lidské imunodeficience typu 1
hnRNP	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein / Heterogenní jaderný ribonukleoprotein
HP1A	Heterochromatin protein 1a / Heterochromatinový protein 1a
HR	Homologous recombination / Homologní rekombinace
Hsp70	Heat shock protein 70 / Protein teplotního šoku 70
Hsp90	Heat shock protein 90 / Protein teplotního šoku 90
HSV-1	Herpes simplex virus type 1 / Herpes simplex virus 1
H3K9	Histone H3 lysine 9 / Devátý lyzin na histonu H3
INO80	Inositol requiring 80 / Chromatin remodelační komplex vyžadující inositol 80
KSHV	Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus / Herpesvirus spojený s Kaposiho sarkomem
LINC	Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton / Propojovač nukleoskeletu a cytoskeletu
MAL	Myelin and lymphocyte protein / Myelinový a lymfocytární protein
MCMV	Murine cytomegalovirus / Myší cytomegalovirus
MHV-68	Murine gammaherpesvirus 68 / Myší gamaherpesvirus 68
MKL1	Megakaryoblastic leukemia protein-1 / Megakaryoblastický leukemický protein-1
MPMV	Mason–Pfizer monkey virus / Mason-Pfizer opičí virus
MRE11	Meiotic recombination 11 / Protein meiotické rekombinace 11
MRN	Mre11-Rad50-Nbs1 complex / Komplex proteinů Mre11, Rad50 a Nbs1
mRNA	Messenger RNA / Mediátorová RNA
MRTF-A	Myocardin-related transcription factor A / Transkripční faktor příbuzný myokardinu A
MyoVa	Myosin Va / Myozin Va
NES	Nuclear export signal / Jaderná exportní sekvence
NHEJ	Non-homologous end joining / Nehomologní spojování konců
NLS	Nuclear localization sequence / Jaderný lokalizační signál

NMI $\beta$	Nuclear myosin I $\beta$ / Jaderný myozin I $\beta$
NuA4	Nucleosome acetyltransferase of histone 4 / Nukleozomová acetyltransferáza histonu H4
N-WASP	Neuronal Wiskott–Aldrich syndrome protein / Protein neurálního Wiskott-Aldrich syndromu
ODV	Occlusion-derived virus / Virus vzniklý okluzí
PCAF	P300/CBP-associated factor / Faktor asociovaný s p300/CBP
PHANIN	Phalloidin-negative intranuclear / Označení pro jaderné aktinové filamenty nebarvitelné faloidinem
PIC	Preinitiation complex / Pre-iniciační komplex
PML NBs	Promyelocytic leukaemia nuclear bodies / Promyelocytární leukemická jaderná tělíška
POT1	Protection of telomeres protein 1 / Ochranný protein telomer 1
pre-mRNP	Precursor messenger ribonucleoprotein particle / Prekurzorová messengerová ribonukleoproteinová částice
PrimPol	Primase and DNA directed polymerase / Primáza a DNA polymeráza
PRV	Pseudorabies virus / Virus Aujeszkyho choroby (nebo také virus pseudovztekliny)
PSF-NonO	Polypyrimidine tract-binding protein-associated splicing factor-non-Pou domain-containing octamer-binding protein / Splicingový faktor asociovaný s polypyrimidinovým traktem tvořící heterodimer s proteinem vázajícím oktamer bez POU domény
P-TEFb	Positive transcription elongation factor b / Pozitivní transkripční elongační faktor b
Ran	Ras-related nuclear protein / Jaderný protein příbuzný Ras
RASSF1A	Ras association domain family 1 isoform A / Izoforma A proteinu patřícího do rodiny obsahující doménu asociovanou s Ras
RCs	Replication compartments / Replikační kompartmenty
RNAPI/II/III	RNA-polymerase I/II/III / RNA-polymeráza I/II/III
SCAR	Suppressor of cAR / Supresor cAR
SMC5/6	Structural maintenance of chromosomes 5 and 6 / Komplex strukturní údržby chromozomu 5 a 6
SRF	Serum response factor / Faktor odezvy séra

SV40	Simian virus 40 / Opičí polyomavirus 40
SWR-C	Swr1-containing chromatin remodeling complex / Chromatin-remodelující komplex obsahující Swr-1
TRF1/2	Telomeric repeat binding factor 1/2 / Telomerický repetiční vazebný faktor 1/2
Unc45	Uncoordinated mutant number 45 / Myozinový chaperon jehož mutací dojde k poruše pohyblivosti
Utr230	Utrophin 230 / Utrofin 230
VZV	Varicella-zoster virus / Virus varicella-zoster
WASH	Wiskott-Aldrich syndrome protein and scar homolog / Protein Wiskott-Aldrichova syndromu a homolog scar
WASP	Wiskott–Aldrich syndrome protein / Protein Wiskott-Aldrichova syndromu
WAVE1	WASP-family verprolin homologous protein 1 / Protein homologní verprolinu z rodiny WASP 1
Xpo1	Exportin 1 / Exportin 1

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Jaderný aktin</b> .....	<b>2</b>
2.1 Objevení jaderného aktinu .....	2
2.2 Formy jaderného aktinu a jejich detekce.....	3
2.2.1 Formy aktinu v jádře .....	3
2.2.2 Detekce forem jaderného aktinu .....	4
2.3 Nukleocytoplazmatický transport aktinu .....	5
2.4 Funkce jaderného aktinu .....	6
2.4.1 Transkripce .....	7
2.4.2 Remodelace chromatinu .....	10
2.4.3 Oprava poškození DNA .....	13
2.4.4 Remodelace replikačních vidliček .....	15
2.4.5 Prodlužování telomer a jejich přesun v replikačním stresu.....	16
<b>3. Interakce virů s jaderným aktinem</b> .....	<b>17</b>
3.1 Herpesviry .....	17
3.1.1 Jaderný aktin při sestavování a transportu virových kapsid.....	17
3.1.2 Pohyb replikačních center .....	19
3.2 Bakuloviry.....	20
3.2.1 Aktinem zprostředkovaný transport bakulovirů do jádra.....	20
3.2.2 F-aktin a morfogeneze nukleokapsid AcMNPV .....	21
3.2.3 Disrupce jaderné membrány a uvolnění kapsid z jádra.....	22
3.2.4 Mechanismus polymerizace jaderného aktinu u bakulovirů .....	22
3.2.5 Translokace cytoplazmatického G-aktinu do jádra .....	24
3.3 Retroviry.....	25
3.4 Adenoviry .....	26
<b>4. Závěr</b> .....	<b>27</b>
<b>5. Seznam použité literatury</b> .....	<b>29</b>

# 1. Úvod

Jaderný cytoskelet neboli nukleocytoskelet poskytuje jádru mechanickou podporu, reguluje jeho tvar, zajišťuje jadernou kompartmentalizaci a podílí se na řadě jaderných dějů. Jeho hlavní složkou jsou laminy (intermediární filamenta) a s nimi asociované proteiny. Vedle laminů jsou součástí nukleocytoskeletu i další strukturálně a funkčně významné komponenty, mezi něž patří také aktin (shrnutí v: Adam, 2017).

Aktin byl po dlouhou dobu znám především jako součást cytoplazmatického cytoskeletu. Jeho přítomnost v jádře byla zpočátku zpochybňována, a teprve s rozvojem moderních metod detekce byl uznán jako plnohodnotná složka nukleocytoskeletu. V jádře se účastní mnoha procesů, včetně transkripce, remodelace chromatinu a opravy DNA (shrnutí v: Kelsch & Tootle, 2018). K nedávno popsáným funkcím jaderného aktinu patří i jeho role v remodelaci replikačních vidliček a také v prodlužování a přesunu telomer v replikačním stresu (Harman et al., 2024; Palumbieri et al., 2023; Pinzaru et al., 2020).

Viry, jakožto intracelulární parazité, využívají různé buněčné faktory k realizaci svého replikačního cyklu. Mezi tyto faktory patří i jaderný aktin, který jsou viry replikující se v jádře schopny cíleně využívat ve svůj prospěch (shrnutí v: Horníková et al., 2022).

Cílem této bakalářské práce je shrnout současné poznatky o jaderném aktinu a jeho roli ve virových infekcích. Práce poskytne podrobné informace o jeho objevu, mechanismu lokalizace, formách a funkcích v buněčném jádře. Následně budou popsány konkrétní způsoby, jimiž jednotlivé virové čeledi využívají jaderný aktin v průběhu svého životního cyklu.

## 2. Jaderný aktin

Aktin je globulární protein patřící mezi nejhojnější a nejvíce konzervované proteiny v eukaryotických buňkách. Účastní se velmi důležitých buněčných procesů, jako je například tvorba cytoskeletu buněk. Ten umožňuje buňce pohyb, intracelulární transport a udržuje tvar a integritu buňky (shrnutí v: Pollard & Cooper, 2009). Recentní data prokázala přítomnost aktinu také v jádře buněk, kam se aktivně přemísťuje z cytoplazmy. V jádře pak hraje významnou roli například v regulaci transkripční aktivity, remodelaci chromatinu či opravě DNA (shrnutí v: Saidova & Vorobjev, 2024). Aktin tedy představuje multifunkční protein, jehož role přesahují hranice cytoplazmy a zahrnují i klíčové jaderné procesy.

### 2.1 Objevení jaderného aktinu

Přestože aktin byl objeven v extraktech králičího kosterního svalu Brunem F. Straubem již v období druhé světové války (Straub, 1943), o jaderném aktinu se dlouho předpokládalo, že je pouze kontaminací vzniklou během izolace buněčného jádra. První zmínky o jaderném aktinu se začaly objevovat v 70. letech 20. století, kde byl popsán jako protein podobný svalovému aktinu v jádrech buněk telecího brzlíku (Ohnishi et al., 1963). V roce 1969 prokázala Nancy J. Lane za použití elektronové mikroskopie přítomnost fibrilárních tělísek v jádrech oocytů čolka *Triturus viridescens*. Týkalo se to pouze oocytů vystavených působení actinomycinu D, který se váže na DNA, a tím inhibuje transkripci. Kromě segregace jaderného materiálu a následné periferní koncentraci granulární složky byla v jádře pozorována neobvyklá fibrilární tělíska skládající se ze samostatných filament (Lane, 1969). Tyto jaderné „tyčinky“ byly poté pozorovány v různých typech buněk i druzích zvířat, jako například v neuronech hypothalamu králíka (Clattenburg et al., 1972), anebo ve svalových buňkách myši (Miranda & Godman, 1973).

Molekulární složení těchto fibrilárních tělísek bylo odhaleno několika skupinami. Mezi první patřila skupina Jockusch B. M. et al., jež extrahovala protein tvořící zmiňovaná tělíska z izolovaného jádra hlenky *Physarum polycephalum*. Extrahovaný protein byl označen za aktin na základě několika pozorovaných charakteristik, mezi něž patřily stejné elektroforetické vlastnosti aktinu a extrahovaného proteinu, zjištěná molekulová hmotnost ( $44000 \pm 3000$ ), schopnost agregace a srážlivost pomocí vinkaleukoblastinu (alkaloid z vinky) (Jockusch et al., 1971).

V roce 1977 dvojice vědců Clark a Merriam objevila, že aktin je u oocytů *Xenopus laevis* v dynamické rovnováze mezi cytoplazmou a jádrem. Byla potvrzena přítomnost aktinu v jádře obratlovců, přičemž až 75 % tohoto aktinu bylo schopno difundovat zpět do cytoplazmy. Zbylých 25 % je stabilně navázáno k nerozpustné frakci chromatinu obsahující chromozomy, jadérko a jaderná granula. Kontaminaci cytoplazmatickým aktinem předešli tím, že izolovali jádro ručně bez významného rozrušení buňky (udělali pouze malý otvor v plazmatické membráně, přes který bylo jádro opatrně vytlačeno pomocí pinzety) a následným ručním odstraněním jaderného obalu, čímž se zamezilo kontaminaci cytoplazmatickým materiálem přichyceným k povrchu izolovaného jádra (Clark & Merriam, 1977).

Později bylo zjištěno, že aktinová tělíška se v jádře tvoří jako reakce na buněčný stres. Poprvé to bylo pozorováno po přidání DMSO (Dimethyl sulfoxide) k buňkám hlenky *Dictyostelium* (Fukui, 1978), buňkám *Amoeba proteus* a lidským HeLa buňkám (Fukui & Katsumaru, 1979). Aktinová tělíška se také v jádře tvořily jako reakce na tepelný šok (W. J. Welch & Suhan, 1985) a při nedostatku ATP (Adenosine triphosphate) (Pendleton et al., 2003).

Další výzkumy už předpokládaly výskyt jaderného aktinu a zaměřovaly se na odhalení jeho funkčních rolí v jádře a mechanismu změny jeho lokalizace.

## 2.2 Formy jaderného aktinu a jejich detekce

### 2.2.1 Formy aktinu v jádře

V obratlovcích bylo identifikováno celkem šest izoform aktinu lišících se N-terminální doménou: tři  $\alpha$ -izoformy specifické pro kosterní, srdeční a hladké svalstvo,  $\gamma$ -izoforma hladkého svalstva a dvě cytoplazmatické izoformy  $\gamma$  a  $\beta$  (Herman, 1993; Vandekerckhove & Weber, 1978a). Z těchto izoform byl však v jádře detekován pouze  $\beta$ -aktin (Xie et al., 2018; Zhao et al., 1998). Monomery aktinu, označované také jako globulární aktin (G-aktin; Globular actin), mohou za přítomnosti různých aktin-vazebných proteinů polymerovat do vláken, známých jako filamentární aktin (F-aktin; Filamentous actin) (shrnutí v: Dominguez & Holmes, 2011).

V jádře se nachází kanonický monomerní G-aktin a struktury polymerizovaného aktinu, jejichž označení v literatuře postrádá jednotnost. Mezi příklady označení těchto struktur patří fibrilární tělíška (Lane, 1969), aktinové svazky (Fukui, 1978), filamenty (Sanger et al., 1980) a struktury podobné tyčinkám (W. J. Welch & Suhan, 1985). Pro lepší přehlednost bude ve zbytku

této práce používáno rozdělení polymerizovaného aktinu na dvě formy, a to oligomery a filamenta. Oligomery představují menší polymery aktinu bez zjevné filamentární struktury, zatímco filamenta jsou větší polymery aktinu připomínající podobu tyčinek či svazky.

Ve studii zabývající se dynamikou jaderného aktinu, provedené na HeLa buňkách za použití metody FRAP (Fluorescence recovery after photobleaching), byla použita nativní i mutantní (neschopná polymerizace) forma aktinu. Výsledky ukázaly, že přibližně 20 % celkového jaderného aktinu tvoří polymerní aktin s rychlou výměnou, zatímco zbytek připadá na frakci G-aktinu (McDonald et al., 2006).

### 2.2.2 Detekce forem jaderného aktinu

Detekce monomerního aktinu v jádře je snazší než filamentárních struktur. Monomery až malé polymery jsou detekovatelné protilátkami proti aktinu, zatímco filamenty nikoliv (Gonsior et al., 1999; Schoenenberger et al., 2005). Typickým způsobem detekce aktinových filament v cytoplazmě je barvení faloidinem, látkou, která se specificky váže na F-aktin. Počáteční studie aktinových „tyčinek“ vzniklých v jádře při tepelném šoku ale ukázala, že tyto struktury nelze obarvit faloidinem. To bylo vysvětleno rozdílnou strukturou aktinových „tyčinek“ (pravotočivý helix) od stresových vláken v cytoplazmě a kompeticí mezi kofilinem (aktin-vazebný protein ovlivňující dynamiku aktinových filament), jež je součástí těchto struktur, a faloidinem o vazbu na aktin (Nishida et al., 1987). Nedávná studie nazvala tyto kofilin-asociované aktinové struktury jako PHANIN (Phalloidin-negative intranuclear) aktinové filamenty, neboli jaderné aktinové filamenty nebarvitelné faloidinem (Nagasaki et al., 2022). Vedle toho však existuje řada studií potvrzující úspěšné obarvení aktinových filament v jádře faloidinem (Baarlink et al., 2013; Belin et al., 2015; Cameron et al., 2007; Kokai et al., 2014).

Další metodou detekce jaderného aktinu jsou sondy, z nichž většina je založena na geneticky kódovaných aktin-vazebných doménách odvozených od kvasinkových nebo lidských proteinů fúzovaných s deriváty GFP (Green fluorescent protein) (Melak et al., 2017). Nejznámějšími sondami jsou LifeAct a Utr230 (Utrophin 230), které měly značit filamentární aktin bez narušení jeho dynamiky, ale pozdější studie ukázaly, že oba typy sond indukují formaci určitých struktur jaderného aktinu (LifeAct indukuje tvorbu filamentárního aktinu, zatímco Utr230 indukuje tvorbu aktinových agregátů) (Du et al., 2015). S alternativním způsobem přišla skupina vědců Kokai et al., která fúzovala aktin s NLS (Nuclear localization

sequence) a následnou nadměrnou expresí vzniklého fúzního proteinu pozorovala vznik jaderných aktinových polymerů značených faloidinem a sondou LifeAct (Kokai et al., 2014). Na tento experiment navázala skupina Kalendová et al. vytvořením tzv. EN-aktinu fúzí  $\beta$ -aktinu s NLS a EYFP (Enhanced yellow fluorescent protein). Nadměrná exprese tohoto proteinu spouštěla v jádře tvorbu svazkovaných filamentů (EN-filamentů) různých tvarů (Kalendová et al., 2014).

## 2.3 Nukleocytoplazmatický transport aktinu

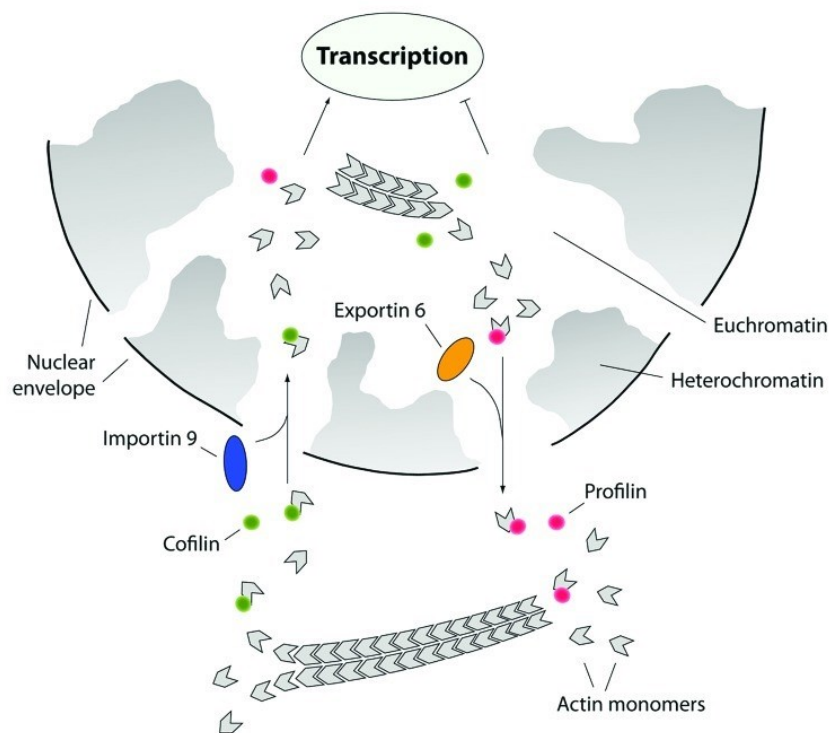
Aktinové monomery se neustále přesouvají mezi jádrem a cytoplazmou v dynamické rovnováze, což naznačuje, že mezi těmito kompartmenty musí existovat oboustranný transport. Dlouho se spekulovalo o tom, zda se jedná o pasivní či aktivní transport, neboť aktinový monomer má velikost asi 42 kDa (3,3 nm x 5,5 nm) (Barden et al., 1981) – spadá tedy do rozmezí velikosti proteinů, které jsou schopny procházet jaderným pórem pasivně (Keminer & Peters, 1999). Teprve skupina vědců Dopie et al. v roce 2012 dokázala, že i po zvětšení aktinového konstruktů nad limit exkluze jaderného póru se rychlost importu jaderného aktinu nesnižuje. To ukazuje na aktivní transport, neboť pasivní difuze pórem by byla na zvětšení konstruktů velmi citlivá (Dopie et al., 2012).

Ta samá skupina objevila i faktor importin 9, který zprostředkovává import aktinu do jádra v komplexu s kofilinem (Dopie et al., 2012). Význam kofilinu pro jaderný transport aktinu spočívá především v přítomnosti sekvence velmi podobné NLS velkého T-antigenu polyomaviru SV40 (Simian virus 40) (Matsuzaki et al., 1988). Samotný aktin neobsahuje žádnou sekvenci podobnou NLS (Vandekerckhove & Weber, 1978b), a proto se předpokládá, že je do jádra transportován právě v komplexu s kofilinem (Obrázek 1).

Mechanismus exportu aktinu z jádra byl zpočátku předmětem kontroverzí. V sekvenci aktinu byly nalezeny dvě funkční leucin-bohaté sekvence NES (Nuclear export signal) (Wada et al., 1998). Stejná studie dokázala, že přidáním leptomycinu B, specifického inhibitoru CRM1 (Chromosomal region maintenance 1), známého také jako exportin 1, dochází k akumulaci aktinu v jádře a k posílení tvorby jaderných aktinových filament v reakci na tepelný šok. To vše ukazovalo na skutečnost, že by aktin mohl být exportován prostřednictvím již zmiňovaného CRM1 (Wada et al., 1998). Myšlenka, že by export aktinu byl zprostředkovaný pomocí CRM1, byla ale zpochybněna několika studiemi (Dopie et al., 2012; Stüven et al., 2003), které místo CRM1 identifikovaly jako hlavního exportéra aktinu exportin 6. Exportin 6 ale není schopen se

vázat na aktin přímo, je potřeba třetího proteinu – profilinu (Stüven et al., 2003). Uznávanějším mechanismem je tedy export aktinu z jádra v komplexu s profilinem pomocí exportinu 6 (Obrázek 1).

Pro transport aktinu, stejně jako pro většinu aktivního jaderného transportu, je také nutný funkční RanGTP/RanGDP (Ras-related nuclear protein navázaný na GTP/GDP; Guanosine diphosphate) - gradient mezi jádrem a cytoplazmou (Dopie et al., 2012; Stüven et al., 2003). Nová studie navíc ukazuje, že pro asociaci exportinu-6 s GTPázou (Guanosine-5'-triphosphate hydrolase) Ran je nezbytný tumor-supresorový protein RASSF1A (Ras association domain family 1 isoform A) lokalizovaný v jaderné membráně (Chatzifrangkeskou et al., 2019).



Obrázek 1: Nukleocytoplazmatický transport aktinu. Aktin je aktivně importován do jádra jaderným pórem (není na obrázku znázorněn) v komplexu s kofilinem. Ran-dependentní jaderný import vyžaduje importní faktor importin 9, který interaguje s kofilinem asociovaným s aktinem. Z buněčného jádra je aktin exportován jaderným pórem v komplexu s profilinem. Ran-dependentní jaderný export komplexu profilin-aktin je regulován exportinem 6, který specificky cílí na profilin. Převzato a upraveno z (Percipalle, 2012).

## 2.4 Funkce jaderného aktinu

Jaderný aktin se podílí na široké škále klíčových buněčných procesů, které zajišťují správnou funkci jádra a regulaci genové exprese. Hraje významnou roli v regulaci transkripce

(Fomproix & Percipalle, 2004; Hofmann et al., 2004; Hu et al., 2004; Philimonenko et al., 2004), remodelaci chromatinu (Galarneau et al., 2000; Shen et al., 2000; Zhao et al., 1998), opravě DNA (Andrin et al., 2012; Belin et al., 2015; Schrank et al., 2018), remodelaci replikačních vidliček (Palumbieri et al., 2023) a prodlužování i přesunu telomer v replikačním stresu (Harman et al., 2024; Pinzaru et al., 2020), což bude podrobně probráno v následujících kapitolách. Je také esenciální k zachování integrity jaderného obalu, kde přispívá k jeho struktuře, dynamice a stabilitě (Feric & Brangwynne, 2013). Další studie také ukazují na roli jaderného aktinu v apoptóze (Grzanka et al., 2011).

### 2.4.1 Transkripce

Transkripce je významným procesem probíhajícím v jádře buňky a výsledky několika nezávislých studií ukazují, že jaderný aktin hraje v její regulaci zásadní roli. Je asociován se všemi RNA polymerázami (RNAP; RNA-polymerase) (Fomproix & Percipalle, 2004; W. A. Hofmann et al., 2004; Hu et al., 2004; Philimonenko et al., 2004) a podílí se na regulaci iniciační i elongační fáze transkripce (Hofmann et al., 2004; Qi et al., 2011). Kromě toho také tvoří komplexy s různými transkripčními faktory (Ambrosino et al., 2010; Vartiainen et al., 2007) a ribonukleoproteiny (Percipalle et al., 2003; Sjölander et al., 2005) a navazuje se na nově vznikající transkripty (Percipalle et al., 2001).

Jak již bylo řečeno, aktin je asociován se všemi třemi RNA polymerázami, Pol I, II a III (Fomproix & Percipalle, 2004; Hofmann et al., 2004; Hu et al., 2004; Philimonenko et al., 2004). Vazebné místo pro aktin tvoří konzervované podjednotky Rbp6 a Rbp8, které jsou společné pro všechny tři polymerázy a nacházejí se blízko sebe na povrchu polymerázy (Cramer et al., 2001; Hu et al., 2004). Jaderný aktin se tak podílí na regulaci všech třech typů transkripce v buňce.

Dosud nejlépe prostudované je zapojení aktinu do RNAPII-dependentní transkripce.  $\beta$ -aktin je potřebný pro tvorbu pre-iniciačního komplexu (PIC; Preinitiation complex) a bez interakce aktinu s RNAPII k transkripci nedochází (Hofmann et al., 2004). Pomocí konfokální mikroskopie byla objevena ko-lokalizace jaderného myozinu I  $\beta$  (NMI $\beta$ ; Nuclear myosin I  $\beta$ ) s RNAPII a jeho vazba na aktin. Důležitost NMI $\beta$  pro syntézu RNA byla prokázána inhibicí jeho aktivity pomocí specifické protilátky, což vedlo k potlačení transkripce (Hofmann et al., 2006; Pestic-Dragovich et al., 2000). Podrobnější studie ukázala, že NMI $\beta$  je nezbytný pro iniciaci transkripce, kde zajišťuje formaci první fosfodiesterové vazby (Hofmann et al., 2006).

Aktin se uplatňuje nejen při iniciaci transkripce, ale také během elongace. Ve formě monomeru (G-aktin) interaguje s cyklin-dependentní kinázou 9, což je katalytická podjednotka pozitivního transkripčního faktoru b (P-TEFb; Positive transcription elongation factor b), v elongačním komplexu. G-aktin rekrutací cyklin-dependentní kinázy 9 podporuje P-TEFb-závislou fosforylaci C-terminální domény RNAPII, a tím dochází k udržení elongační fáze a k úniku RNAPII ze zastavení (Obrázek 2) (Qi et al., 2011). Za použití afinitní chromatografie byly identifikovány dva heterogenní jaderné ribonukleoproteiny (hnRNP; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) vázající se na aktin v elongační fázi transkripce. Protein hrp65 v buňkách *C. tentans* váže aktin skrze CTD (C-terminal domain). Komplex aktin-hrp65 je důležitý pro zachování normální transkripční aktivity, zejména během elongační fáze, neboť aktin a hrp65 jsou asociovány s vznikající pre-mRNP (Precursor messenger ribonucleoprotein particle) podél celé transkripční jednotky (Percipalle et al., 2003; Sjölander et al., 2005). Homologem proteinu hrp-65 je u obratlovců protein PSF-NonO (Polypyrimidine-tract-binding-protein associated splicing factor-non-Pou-domain octamer-binding protein) (shrnutí v: Percipalle, 2012). Přes CTD váže aktin také protein hnRNP U. Disrupce komplexu aktin-hnRNP U či umlčování hnRNP U způsobí pokles až úplné zastavení transkripce v buňkách HeLa, stejně jako v případě hrp65 (Kukalev et al., 2005).

Interakce těchto hnRNPs s aktinem podporují histon acetyltransferázy (HATs; Histone acetyltransferases) (Obrdlik et al., 2008; Sjölander et al., 2005). Konkrétně u savců se jedná o asociaci hnRNP U, aktinu a histon acetyltransferázy PCAF (P300/CBP-associated factor), která zprostředkovává acylaci H3K9 (Histone H3 lysine 9). Všechny tyto proteiny interagují s karboxy-terminální doménou RNAPII fosforylovanou na Ser5 a Ser2, jsou přítomny na promotorech a kódujících oblastech konstitutivně exprimovaných genů RNAPII a jsou asociovány s ribonukleoproteinovými komplexy (Obrdlik et al., 2008). Z těchto zjištění vyplývá, že aktin, hnRNP U a PCAF jsou součástí komplexu s fosforylovanou CTD RNAPII, který je zapojen do udržení elongační fáze transkripce (Obrázek 2).



Vedle interakce s RNA polymerázami reguluje jaderný aktin transkripci také skrz vazbu specifických transkripčních faktorů, jako je například faktor MRTF-A (Myocardin-related transcription factor A). MRTF-A, známý také pod označením MAL (Myelin and lymphocyte protein) či MKL1 (Megakaryoblastic leukemia protein-1), je ko-aktivátorem transkripčního faktoru SRF (Serum response factor). V klidových buňkách MRTF-A přechází mezi cytoplazmou a jádrem, přičemž pouze forma s navázaným G-aktinem může být exportována z jádra do cytoplazmy. Aktin reguluje nejen nukleocytoplazmatický transport faktoru MRTF-A, ale i jeho schopnost vázat SRF a ve vzniklém komplexu aktivovat transkripci SRF cílových genů. Signál vedoucí ke vzniku F-aktinu sníží množství volného G-aktinu a tím zapříčiní akumulaci MRTF-A bez navázaného aktinu v jádře. Díky tomu mohou MRTF-A a SRF asociovat s promotory cílových genů SRF a aktivovat jejich transkripci (Vartiainen et al., 2007).

Další studie zkoumala ER $\alpha$  (Estrogen receptor  $\alpha$ ) v buňkách rakoviny prsu a jeho přestavbu a přesun do jádra po navázání ligandů. Purifikační komplexů byl odhalen  $\beta$ -aktin, který má ve formě F-aktinu interagovat s ER $\alpha$  a podílet se na regulaci exprese cílových genů ER $\alpha$  (Ambrosino et al., 2010).

Kromě již zmíněných funkcí se aktin také váže do transkripčně aktivních oblastí chromatinu buněk *C. tentans* a interaguje s proteiny vázajícími nové transkripty. Konkrétně se jedná o asociaci aktinu s proteinem hrp36, patřícím mezi hnRNPs. Hrp36 se ko-transkripčně váže na mediátorovou RNA (mRNA; Messenger RNA) Balbianiho prstence (oblast aktivní transkripce) a provází ji přes jaderný pór až do polyzomů (Percipalle et al., 2001).

## 2.4.2 Remodelace chromatinu

Remodelace chromatinu představuje zásadní mechanismus regulace genové exprese, který umožňuje dynamickou reorganizaci struktury nukleozomů a přístup k DNA. Aktin se na tomto procesu podílí nejen jako funkční komponenta několika chromatin-remodelujících komplexů (Galarneau et al., 2000; Shen et al., 2000; Zhao et al., 1998), ale také jako zprostředkovatel pohybu chromatinu na delší vzdálenosti (Chuang et al., 2006; Dundr et al., 2007; Khanna et al., 2014).

Prvním objeveným chromatin-remodelujícím komplexem obsahující aktin byl komplex BAF (BRG1-or-BRM-associated factor) indukující chromatinové změny v lymfocytech. Po purifikaci a sekvenaci komplexu se ukázalo, že komplex obsahuje  $\beta$ -aktin a protein příbuzný aktinu – BAF53. Aktin a protein BAF53 se váží ke komplexu díky asociaci s hlavní

enzymatickou podjednotkou BRG1 (Brahma-related gene 1) a jsou zapotřebí pro její maximální ATPázovou (Adenosine-5'-triphosphate hydrolase) aktivitu. Zároveň se podílejí na vazbě komplexu na chromatin (Zhao et al., 1998). To potvrdila i studie vědců Xie et al., která zkoumala myší embryonální fibroblasty s vyřazeným genem pro  $\beta$ -aktin ( $\beta$ -aktin KO buňky). Bez  $\beta$ -aktinu byla pozorována ztráta vazby zprostředkované proteinem BRG1 na chromatin, zvýšení trimethylace H3K9 a větší množství heterochromatinového proteinu 1 $\alpha$ , což vedlo k přeprogramování vzorců genové exprese. Po vložení  $\beta$ -aktinu s připojenou NLS sekvencí byl alespoň částečně obnoven původní stav (Xie et al., 2018).

Aktin, spolu s Arp 4, Arp 5 a Arp 8 (Actin-related proteins), je asociován také s INO80 (Inositol requiring 80) remodelujícím komplexem v kvasinkách (Shen et al., 2000). Interakce je zprostředkována přes N-terminální doménu ATPázy Ino80 (Shen et al., 2003). Kvasinky obsahují pouze jeden gen pro aktin (ACT1) a mutací tohoto genu dochází k poruše v remodelaci chromatinu zprostředkované komplexem INO80. Také bylo pozorováno, že jaderný aktin v komplexu INO80 funguje pouze jako monomer a přispívá k remodelaci chromatinu komplexem INO80 skrze svou subdoménu 2 (Kapoor et al., 2013).

Dalším komplexem, jehož součástí je aktin a aktinu-příbuzný protein, je komplex NuA4 (Nucleosome acetyltransferase of histone 4). Tento komplex interaguje s aktivátory a stimuluje transkripci acylací histonu 4 nukleozomální acetyltransferázou H4. Aktin a aktinu-příbuzný protein Act3/Arp4 patří mezi podjednotky komplexu NuA4, přičemž Act3/Arp4 váže nukleozomy a přispívá ke stabilitě celého komplexu (Galarneau et al., 2000).

Regulace aktivity HDAC 1 (Histone deacetylase 1) a HDAC 2 (Histone deacetylase 2) patří mezi další role jaderného aktinu. Přidání purifikovaného monomerního aktinu vede k inhibici deacetylační aktivity HDAC, čímž dochází k rozvolnění chromatinu, zatímco polymerizace jaderného aktinu zvýší aktivitu HDAC a způsobí tím kondenzaci chromatinu. Jaderný aktin může tedy regulací aktivity HDAC ovlivňovat strukturu chromatinu a tím transkripci genů. (Serebryannyy, Cruz, et al., 2016).

Přidání monomerního aktinu inhibuje HDAC, což vede k rozvolnění chromatinu, zatímco polymerizovaný aktin zvyšuje jejich aktivitu a podporuje kondenzaci chromatinu. Zejména interakce jaderného aktinu s komplexy HDAC1 a HDAC2 může snižovat jejich deacetylační aktivitu, čímž potenciálně podporuje genovou transkripci (Serebryannyy, Cruz, et al., 2016).

Jaderný aktin je také spojován s pohybem chromatinu, a dokonce celých chromozomů. Funkční kompartmentace jádra spočívá v odlišném umístění různých typů sekvencí v rámci jádra. Oblasti chromozomů bohaté na geny se obvykle nacházejí uvnitř jádra, zatímco oblasti s méně geny jsou často poblíž jaderné periferie. Stejně tak, neaktivní geny jsou většinou asociované s heterochromatinovými oblastmi, kdežto aktivně transkribované geny bývají v blízkosti jaderných skvrn (shrnutí v: Spector, 2003). Změnou pozice genu může být ovlivněna jeho transkripční aktivita, například přesunutím genu na periferii jádra nastane utlumení transkripce, za což mohou, alespoň částečně, histon deacetylázy třídy I a II nacházející okolo periferie jádra (Finlan et al., 2008).

Skupina vědců Chuang et al. studovala dynamiku přemístění určitého místa na interfázním chromozomu na delší vzdálenost. Po zacílení transkripčního aktivátoru na toto místo došlo k jeho migraci z jaderné periferie do vnitřku jádra. Pohyby studovaných chromozomů byly jednosměrné a orientované, na vzdálenost 1-5  $\mu\text{m}$ . Tento pohyb byl blokován expresí mutovaného aktinu neschopného polymerizace (G13R mutace), zatímco mutace aktinu, která stabilizuje F-actin (S14C mutace), pohyb urychlovala (Chuang et al., 2006). Tyto výsledky ukazují na aktivní mechanismus pohybu chromozomů zprostředkované aktinem. Stejně tak je polymerizace aktinu důležitá pro přemístění U2 snRNA lokusu ke Cajalovým tělískům (Dundr et al., 2007) a pro přesun proteinu Hsp70 (Heat shock protein 70) do jaderných skvrn po indukci tepelného šoku (Khanna et al., 2014). Všechny tyto studie ukazují na významnou roli polymerizovaného jaderného aktinu v posunu chromatinu.

V kvasinkách *S. cerevisiae* byly identifikovány proteiny, které se podílejí se na mechanismu pohybu specifického místa chromatinu na dlouhé vzdálenosti v reakci na určitý fyziologický podnět. Pro pohyb lokusu INO1 po aktivaci transkripce je nezbytná interakce polymerizovaného jaderného aktinu a myozinu 1C. Tato interakce je stabilizována chromatin-remodelujícími komplexy INO80 a SWR-C (Swr1-containing chromatin remodeling complex), přesněji jejich podjednotkami obsahujícími Arp. Pohyb také vyžaduje proteiny spouštějící polymerizaci aktinu, jako je formin a jeho kvasinkové homology, které jsou pravděpodobně potřeba pro vytvoření dynamické sítě krátkých aktinových polymerů v jádře. Aktivita myozinu i remodelačních komplexů je řízená molekulárním chaperonem Hsp90 (Heat shock protein 90) (A. Wang et al., 2020).

### 2.4.3 Oprava poškození DNA

Dalším procesem, na kterém se jaderný aktin a aktin-příbuzné proteiny podílejí, je oprava poškozené DNA. Dvouřetězcové zlomy v DNA neboli „DSB“ (Double-strand break), jsou označovány za nejnebezpečnější formy poškození DNA v buňkách. Existují dva hlavní procesy opravy těchto zlomů, a to nehomologní spojování konců (NHEJ; Non-homologous end joining) a homologní rekombinace (HR; Homologous recombination). NHEJ je rychlá, vysoce kapacitní dráha, která spojuje dva konce DNA s minimální potřebou homologie, ale často může vést k nechtěným inzercím či delecím v místě spoje. Probíhá během všech fází buněčného cyklu. HR oproti tomu vyžaduje homologní sekvenci DNA (typicky sesterskou chromatidu) jako templát pro syntézu nové DNA v místě zlomu. Díky mechanismu homologní rekombinace, který HR využívá, je opravená sekvence identická s původní a nedochází tak ke vzniku mutací. Její průběh je omezen na fáze S a G2 buněčného cyklu (shrnutí v: Scully et al., 2019).

Pomocí mikroskopie živých buněk bylo zjištěno, že změny v dynamice chromozomů korelují s relokací DSB k periférii jádra (Oza et al., 2009). Následovala studie již přímo dokazující účast aktinu na opravě DSB, konkrétně ve formě F-aktinu, ke kterému jsou schopné se vázat proteiny zapojené do opravy DSB. Mezi tyto proteiny patří heterodimer Ku70/Ku80, který je součástí dráhy NHEJ, v níž se váže na volné konce poškozené DNA a uspořádá je způsobem umožňujícím jejich spojení ligací. Zavedení mutovaného aktinu neschopného polymerace do jádra významně snížilo retenci proteinu Ku80 v místech poškození DNA. Kromě toho, inhibice polymerizace jaderného aktinu látkami, jako je latrunkulin A, celkově narušuje dráhu NHEJ *in vitro* (Andrin et al., 2012).

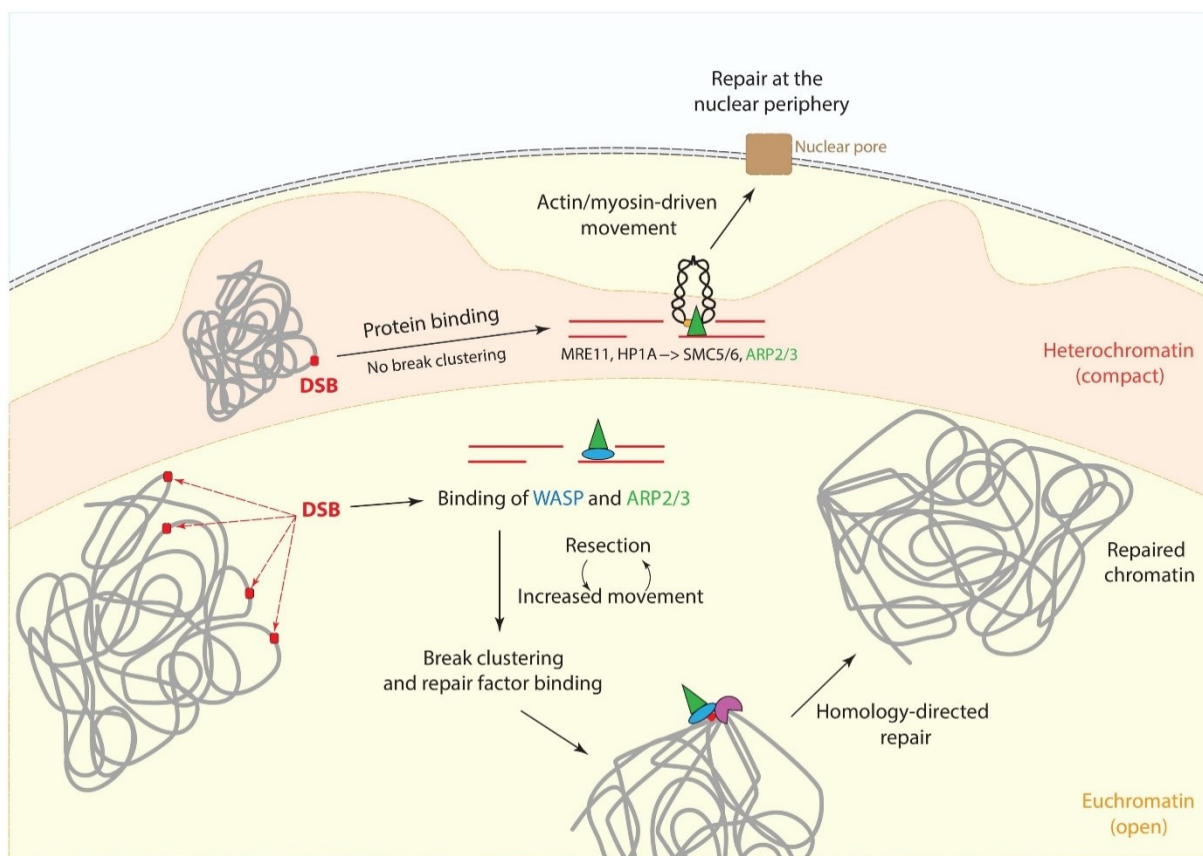
Později byl přímo detekován vznik aktinových filament jako reakce na poškození DNA. Pro vznik těchto filament je zapotřebí dvou nukleárních faktorů, forminu-2 a spire-1/spire-2. Formin-2 se akumuluje v jádře po poškození DNA a snížením jeho hladiny se zvyšuje počet DSB v DNA (Belin et al., 2015).

V buňkách Kc167 (buněčná linie odvozená od embryonálních buněk) *Drosophila melanogaster* dochází před zahájením opravy pericentromerického heterochromatinu s DBS pomocí HR k přesunu heterochromatinu k reparačním místům nacházejících se v jaderné periférii. Relokalizace probíhá prostřednictvím řízeného pohybu podél aktinových filament vytvořených v reparačních místech komplexem Arp2/3. Motory zajišťující pohyb heterochromatinu jsou jaderné myoziny 1A, 1B a myozin V. Mimo to je potřeba aktivátorů Arp2/3, konkrétně proteinů WASH a SCAR (Suppressor of cAR), a myozinového aktivátoru

Unc45 (Uncoordinated mutant number 45), jenž se k místům opravy dostává prostřednictvím chromozomálního strukturního proteinu SMC5/6 (Structural maintenance of chromosomes 5 and 6) (Caridi et al., 2018). Model je znázorněn na Obrázku 3.

Pokud v savčích buňkách během G1 fáze buněčného cyklu vzniknou DSB v transkripčně aktivních genech, dochází k jejich shlukování. Oprava je prováděna se zpožděním a výhradně homologní rekombinací. Shlukování DSB závisí na aktivitě komplexu MRN (Mre11-Rad50-Nbs1), komplexu LINC (Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) a také na organizátoru aktinu forminu 2 (Aymard et al., 2017). DSB podléhající opravě pomocí HR vykazují rozsáhlé zpracování konců DNA a zvýšenou pohyblivost oproti NHEJ. K DSB opravovanému pomocí HR je rekrutován jaderný aktin, komplex Arp2/3 a jeho aktivátor protein WASP (Wiskott–Aldrich syndrome protein). Polymerizace aktinu zajišťuje migraci několika DSB do sub-nukleárních klastrů, kde dochází k opravě (schéma na Obrázku 3). Inhibice aktivity komplexu Arp2/3 pomocí malé molekuly CK-666 snižuje shlukování a mobilitu DSB, narušuje proces zpracování konců DNA a celkovou efektivitu HR (Schrank et al., 2018).

Jaderný aktin se na opravě poškození DNA podílí také interakcí s PML NBs (Promyelocytic leukaemia nuclear bodies) (Cobb et al., 2022). PML NBs jsou jaderné struktury zapojené do řady buněčných procesů, včetně apoptózy, regulace transkripce, odpovědi na virovou infekci a také detekce a opravy poškození DNA (shrnutí v: Chang et al., 2018). Skupina vědců Cobb et al. prokázala, že v odpovědi na poškození DNA jaderný aktin polymerizuje do filament, díky kterým se PML NBs mohou přesouvat k místům poškození DNA a napomáhat zde jejich opravě (Cobb et al., 2022).



Obrázek 3: Modely funkce jaderného aktinu při opravě dvouvláknových zlomů DNA (DSB). Na DSB v euchromatinu se váže protein WASP a komplex Arp2/3. Ty napomáhají resekci (upravení konců DNA), pohybu a shlukování DSB před opravou pomocí HR. DSB v heterochromatických doménách, které procházejí HR opravou, se neshlukují, ale pohybují se k jaderné periferii v závislosti na aktinu a myozinu, kde dochází k jejich opravě. Protein MRE11 je součástí komplexu MRN, který se podílí na opravě DSB. HP1A ovlivňuje dostupnost chromatinu pro opravu. DSB – Dvouřetězcový zlom DNA, WASP – Protein Wiskott-Aldrichova syndromu, ARP2/3 – Aktin-příbuzný protein 2 a 3, SMC5/6 – Komplex strukturální údržby chromozomu 5/6, MRE11 – Protein meiotické rekombinace 11, HP1A – Heterochromatinový protein 1a. Převzato a upraveno z (Hurst et al., 2019).

#### 2.4.4 Remodelace replikačních vidliček

Tvorba tzv. reverzních vidliček představuje jeden ze způsobů, jak buňky reagují na replikační stres, jako jsou například DNA léze. Tento ochranný mechanismus umožňuje přestavbu replikačních vidliček do čtyřcestných struktury, které zpomalují replikaci a zabraňují vzniku DSB. K přestavbě je nezbytná vazba rekombinázy RAD51 na replikační vidličku a zapojení několika translokáz (shrnutí v: Neelsen & Lopes, 2015). Mimo to se dle studie z roku 2023 na remodelaci replikačních vidliček podílí i jaderný aktin (Palumbieri et al., 2023).

V S-fázi buněk byly v jádře detekovány jaderné aktinové filamenty asociované s replikačními centry, jejichž počet i délka se po mírném genotoxickém stresu, jako je například přidání topoizomerázových inhibitorů, zvětšila. Byl proto zkoumán funkční význam interakce

mezi jaderným F-aktinem a replikačními centry při replikaci DNA. Bylo zjištěno, že Arp2/3-závislá polymerizace jaderného aktinu je nutná pro aktivní zpomalení replikační vidličky a přestavbu na reverzní vidličku v reakci na replikační stres. Defektní aktinová polymerizace vede k deregulovanému zapojení PrimPol (Primase and DNA directed polymerase) do syntézy DNA (Palumbieri et al., 2023). Aktivita PrimPol je charakteristická rychlou, ale přerušovanou syntézou DNA, při které nedochází ke tvorbě reverzních vidliček (Mourón et al., 2013). Jaderný F-aktin se tak podílí na remodelaci replikačních vidliček především regulací aktivity PrimPol.

#### 2.4.5 Prodlužování telomer a jejich přesun v replikačním stresu

Telomery jsou konzervované struktury na koncích lineárních chromozomů skládají se z tandemových repetice a jednořetězcového přesahu bohatého na guanin. Odhalené telomery však aktivují v buňkách reakci na poškozenou DNA, neboť připomínají DSB. Jsou proto obaleny šesti-proteinovým komplexem zvaným shelterin, který rozeznává tandemové repetice telomer pomocí dvou svých podjednotek – TRF1 (Telomeric repeat binding factor 1) a TRF2 (Telomeric repeat binding factor 2). Další z proteinů shelterinu, POT1 (Protection of telomeres protein 1), pokrývá jednořetězcový převis telomer. V kmenových a zárodečných buňkách je aktivní enzym telomeráza, který zajišťuje prodlužování telomer během S-fáze buněčného cyklu (shrnutí v: Nassour et al., 2021).

Studie zabývající se mechanismem regulace navázání enzymu telomerázy na telomery prokázala, že jaderný F-aktin je pro tento proces nezbytný. Telomerický replikační stres, jako je například přílišné zkrácení telomer či zastavení replikační vidličky, vede v buňkách k aktivaci reakce na poškozenou DNA a polymerizaci jaderného aktinu. Telomeráza je za pomoci aktinových filament přivedena k telomerám v replikačním stresu a umožňuje prodloužit jejich délku (Harman et al., 2024).

Kromě rekrutace telomerázy způsobuje replikační stres také přesun telomer blíže k jaderné periférii (Harman et al., 2024; Pinzaru et al., 2020). Tento relokizační proces je v buňkách s mutantní formou proteinu POT1 (neschopná vázat jednořetězcový převis telomer) rovněž závislý na polymeraci jaderného aktinu (Pinzaru et al., 2020).

## 3. Interakce virů s jaderným aktinem

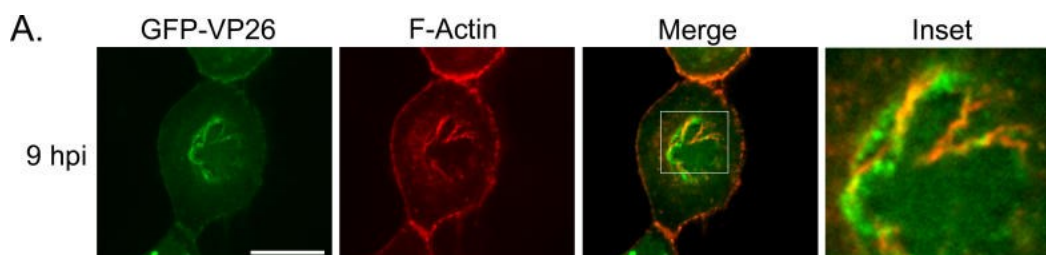
Jádro buňky je klíčové pro replikaci a expresi genů mnoha virů. Je proto logické, že interakce mezi virem a jaderným aktinem, který je důležitou součástí jaderného prostředí, hraje významnou roli v průběhu virové infekce. Způsoby, jak viry využívají jaderný aktin pro svůj prospěch, budou podrobně probrány v následujících podkapitolách.

### 3.1 Herpesviry

Herpesviry jsou velké obalené viry, jejichž viriony obsahují lineární dvouvláknovou DNA, která je uzavřena v proteinové kapsidě. Kapsida je obklopena vrstvou proteinů označovanou jako „tegument“. Tegument je obklopen lipidickým obalem obsahujícím virové glykoproteiny. Čeleď *Herpesviridae* může být dále rozdělena na tři samostatné podčeledi: *Alfa-*, *Beta-* a *Gamma-herpesvirinae*, přičemž všechny navozují u svých hostitelů celoživotní infekce. Mezi alfaherpesviry (*Alphaherpesvirinae*) patří například HSV-1 (Herpes simplex virus type 1), VZV (Varicella-zoster virus) a PRV (Pseudorabies virus). HCMV (Human cytomegalovirus) a MCMV (Murine cytomegalovirus) jsou často studovanými zástupci betaherpesvirů (*Betaherpesvirinae*), virus Epstein-Barrové (EBV; Epstein-Barr virus) a Kaposiho sarkomu (KSHV; Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) jsou gamaherpesviry (*Gammapherpesvirinae*) infikující člověka. Transkripce, replikace i enkapsidace herpesvirových genomů probíhá v buněčném jádře (shrnutí v: Roberts & Baines, 2011).

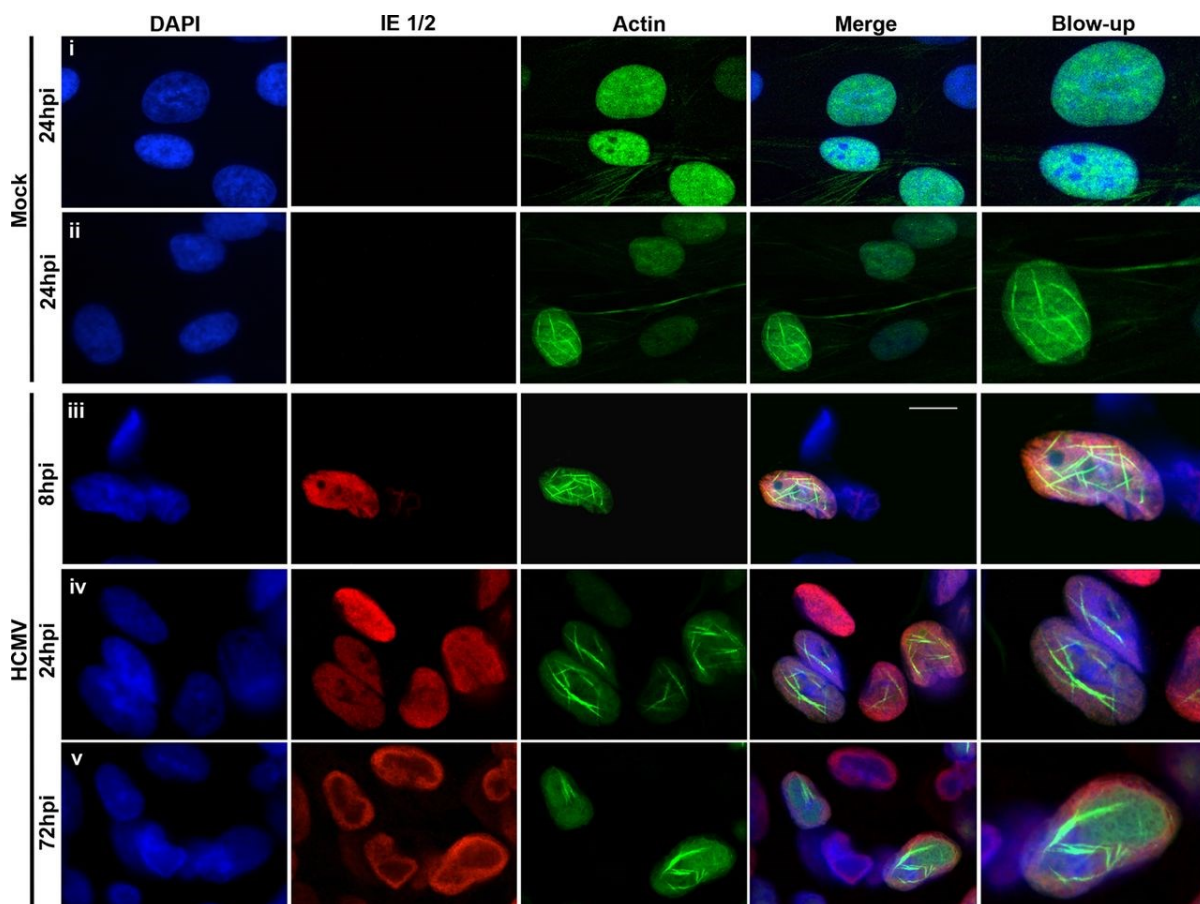
#### 3.1.1 Jaderný aktin při sestavování a transportu virových kapsid

Po infekci neuronů virem PRV a HSV-1 dochází k formaci aktinových filament v jádře. Virové kapsidy PRV, vizualizované pomocí GFP-VP26 (kapsidový protein s navázaným GFP), ko-lokalizují s těmito aktinovými filamenty. GFP-VP26 agreguje v místech skládání virových kapsid a vzniká tzn. „GFP-VP26 foci“ (Obrázek 4) (Feierbach et al., 2006). Stejná skupina autorů také objevila, že jaderné aktinové filamenty se formují před sestavením kapsid a jsou nezbytné pro efektivní tvorbu míst sestavy virových kapsid, neboť po přidání latrunkulinu A nedochází ke vzniku GFP-VP26 foci. Vedle filamentárního aktinu byla pozorována také ko-lokalizace GFP-VP26 s molekulárním motorem MyoVa (Myosin Va), což by naznačovalo pohyb vzniklých kapsid od replikačních center do jaderné periferie po aktinových filamentech za pomoci MyoVa (Feierbach et al., 2006).



Obrázek 4: GFP-VP26 ko-lokalizuje s jadernými aktinovými filamenti. Neuron infikován PRV exprimující GFP-VP26, fixován v uvedeném časovém bodě. Je zobrazena jedna fokální rovina skrze jádro. Zvětšený snímek jádra („Inset“) je zobrazen pro lepší přehlednost. Sloučený obrázek („Merge“) byl vytvořen v programu ImageJ a barevně upraven lineárně tak, aby vypadal žlutě. Měřítko = 10  $\mu$ m. Převzato a upraveno z (Feierbach et al., 2006).

Jaderný F-aktin byl popsán také při infekci buněk zástupcem betaherpesvirů – HCMV. Infekce lidských fibroblastů virem HCMV navodí vznik aktinových filament v jádře, přičemž později v průběhu infekce se F-aktin primárně nachází podél periferie RCs (Replication compartments), kde dochází k syntéze virové DNA. Aktin byl detekován pomocí sondy LifeAct-GFP s přidanou NLS sekvencí (Obrázek 5). Depolymerizace jaderného F-aktinu způsobená přidáním latrunkulinu A narušuje produkci infekčního viru. Nedochází ke správnému výstupu kapsid z jádra a místo prostupu do cytoplazmy se kapsidy akumulují v jádře. Latrunkulin A také inhibuje pohyb kapsid od replikačních kompartmentů k jaderné periferii (Wilkie et al., 2016). Následná studie zkoumala mechanismus pohybu kapsid HCMV od RCs k jaderné periferii a identifikovala molekulární motor myozin Va jakožto jeho zprostředkovatele. Myozin Va se koncentruje do RCs, kde ko-lokalizuje a asociuje s kapsidami. Hlavní kapsidový protein spolu s myozinem Va také ko-lokalizují s jaderným F-aktinem. RNA interference a použití dominantně negativních mutant ukázalo, že myozin Va je nezbytný pro efektivní produkci virionů, přesun kapsid k periferii jádra a jejich vstup do cytoplazmy. Byl proto navržen model, podle něhož kapsidy HCMV asociují s myozinem Va a pohybují se k jaderné periferii po aktinových vláknech (Wilkie et al., 2018).



Obrázek 5: HCMV indukující vznik jaderného F-aktinu. Lidské fibroblasty exprimující LifeAct-GFP-NLS (zeleně) byly buď „mock“ infikovány (řady i a ii) nebo infikovány divokým typem HCMV (řady iii až v). Buňky byly fixovány v uvedených časových bodech, barveny protilátkou proti časným virovým proteinům IE1/2 (červeně) a DAPI (značí jadernou DNA) (modře), a zobrazeny pomocí konfokální mikroskopie založené na rotujícím disku. Měřítka, 10  $\mu\text{m}$ . Převzato a upraveno z (Wilkie et al., 2016).

### 3.1.2 Pohyb replikačních center

Mimo roli aktinu v sestavování a transportu kapsid herpesvirů byla popsána také jeho úloha v pohybu RCs. Ta se v jádře přemísťují aktivním řízeným pohybem, který je závislý na jaderném aktinu, myozinu I a transkripci. Inhibitory těchto složek (latrunkulin A, 2,3-butanedion monoxim a  $\alpha$ -amanitin) narušují tento pohyb. Transkripčně aktivní RCs se slučují v jaderných skvrnách (speckles), čímž vznikají struktury usnadňující export pozdních virových mRNA z jádra (Chang et al., 2011).

V roce 2014 však skupina vědců Bosse et al. získala výsledky, které jsou v rozporu s dřívější hypotézou spojující pohyb PRV a HSV-1 kapsid s jaderným F-aktinem a myozinem. Primární fibroblasty byly infikovány zástupci všech tří podčeledí herpesvirů, konkrétně viry PRV, HSV-1, MCMV a MHV-68 (Murine gammaherpesvirus 68). V žádném z případů nebyl

po infekci v buňkách detekován jaderný F-aktin, a to ani pomocí sondy Lifeact, ani barvením faloidinem. Latrunkulin A měl dle dřívějších hypotéz inhibovat transport kapsid v jádře depolymerizací F-aktinu. Místo toho ale indukoval tvorbu jaderných aktinových filament specifického typu, které stéricky blokovaly pohyb kapsid a zachycovaly je vazbou aktinu na hlavní kapsidový protein VP5. Filamenty tohoto typu vznikají v reakci na buněčný stres, čímž je i ošetření lantrunculinem A. Na motilitu jaderných kapsid měl vliv pouze latrunkulin A, zatímco jiné inhibitory aktinu, konkrétně mykalidolid B a jasplakinolid, neměly významný vliv na pohyblivost kapsid ve srovnání s buňkami ošetřenými kontrolním médiem (Bosse et al., 2014). Byl proto navržen nový model, podle kterého se mají kapsidy herpesvirů v jádře pohybovat na základě pasivní difúze. Infekce vede ke zvětšení interchromatinových prostorů, což umožňuje snadnější difúzi a efektivnější přesun k jaderné membráně (Bosse et al., 2015).

## 3.2 Bakuloviry

Bakuloviry jsou velké obalené viry s dvouvláknovou DNA infikující výhradně hmyz, zejména řády *Lepidoptera*, *Diptera* a *Hymenoptera*. Typickým rysem jejich infekčního cyklu je tvorba dvou morfologicky odlišných typů virionů, z nichž každý plní odlišnou roli v infekci. ODV (Occlusion-derived virus) viriony získávají obal v jádře a jsou následně uzavřeny do krystalizované proteinové matrix za vzniku okluzního tělíska. Tato struktura fyzicky chrání viriony v prostředí mimo hostitele, což je potřeba při přenosu virionů z hmyzu na hmyz. BV (Budded virus) viriony vznikají pučením nukleokapsidy z cytoplazmatické membrány infikované buňky, odkud také získávají svůj obal. Slouží k přenosu infekce z buňky na buňku a z tkáně na tkáň v rámci jednoho hostitele. Virová genová exprese, DNA replikace i morfogeneze kapsid probíhá v jádře. Z čeledi *Baculoviridae* byla nejvíce studována podčeď *Alphabaculovirus* s hlavním zástupcem AcMNPV (*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus), který sloužil jako model pro většinu studií zaměřující se na biologii bakulovirů (shrnuto v: Blissard & Theilmann, 2018).

### 3.2.1 Aktinem zprostředkovaný transport bakulovirů do jádra

Již od raných stádií infekce bakuloviry dochází v buňkách k přestavbě aktinového cytoskeletu, a to nejen v cytoplazmě, ale i v jádře (Charlton & Volkman, 1991). Ihned po vstupu viru do buňky vykazují nukleokapsidy AcMNPV motilitu poháněnou aktinovou polymerací. V cytoplazmě vzniká síť aktinových filament tvořící tzv. aktinové komety, jejichž rychle

rostoucí konce tlačí nukleokapsidu cytoplazmou směrem k jádru (Charlton & Volkman, 1993; Mueller et al., 2014). Pohyb zprostředkovaný aktinovými kometami byl popsán i u intracelulárních bakterií, jako je *Listeria monocytogenes* (Tilney & Portnoy, 1989). K indukci aktinové polymerizace u *L. monocytogenes* je zapotřebí hostitelský komplex Arp2/3 spolu s bakteriálním faktorem ActA podporující nukleaci, který aktivuje tento komplex (Kocks et al., 1992; M. D. Welch et al., 1997). Nukleokapsida AcMNPV obsahuje také protein podporující nukleaci, konkrétně protein P78/83, u něhož bylo potvrzeno, že aktivuje hostitelský komplex Arp2/3 a řídí tedy motilitu AcMNPV (Ohkawa et al., 2010).

Aktinové komety také pomáhají prostupu nukleokapsid do jádra jadernými póry. Je zde využito síly polymerizace aktinu, kdy aktinová kometa protlačuje nukleokapsidu skrz jaderný pór (Au et al., 2016).

Po časně genové expresi viru byla pozorována i aktinem zprostředkovaná motilita nukleokapsid AcMNPV směrem k buněčné periferii. Viriony přicházející do již infikované buňky jsou místo do jádra transportované do špiček povrchových aktinových výběžků. Nejedná se přitom o nově syntetizované nukleokapsidy, neboť od počátku infekce neuplynulo dostatečné množství času pro produkci nových virionů. Navíc je hromadění nukleokapsid na buněčném povrchu pozorováno i v přítomnosti aphidikolinu blokujícího syntézu DNA. Tento transport umožňuje rychlé a efektivní šíření do sousedních buněk během infekce (Ohkawa et al., 2010).

### 3.2.2 F-aktin a morfogeneze nukleokapsid AcMNPV

V pozdější fázi infekce bakulovirem dochází v jádře k tvorbě F-aktinu (Charlton & Volkman, 1991). Studie zkoumající vliv cytochalasinu D (inhibitor polymerizace aktinu) na infekční cyklus AcMNPV postulovaly, že morfogeneze nukleokapsid je závislá na této tvorbě. Po přidání cytochalasinu D je narušena správná morfogeneze nukleokapsid, a to i přesto, že exprese kapsidového proteinu i syntéza virové DNA zůstaly neovlivněny. AcMNPV rekombinant exprimující aktin rezistentní na cytochalasin D obnoví produkci nově syntetizovaných virionů (Ohkawa & Volkman, 1999; Volkman, 1988). Jaderný F-aktin tedy představuje klíčovou složku nutnou pro správnou morfogenezi nukleokapsid AcMNPV.

### 3.2.3 Disrupce jaderné membrány a uvolnění kapsid z jádra

Po sestavení nukleokapsid AcMNPV lze v jádře pozorovat jejich pohyb směrem k jaderné periférii. Jedná se o aktin-zprostředkovanou motilitu závislou na proteinu P78/83 a komplexu Arp2/3, stejně jako při pohybu v cytoplazmě. Dochází ke tvorbě aktinových komet, které dopravují nukleokapsidy k jaderné periférii (Ohkawa & Welch, 2018).

Aktinem zprostředkovaná motilita se rovněž podílí na prodlužování výběžků v jaderné membráně, kde aktinová polymerizace umožňuje vznik lokálního narušení jaderné membrány a výstup nukleokapsid z jádra do cytoplazmy. V cytoplazmě viry využívají pohyb závislý na aktinu k dosažení plazmatické membrány a následnému pučení z buňky (Ohkawa & Welch, 2018).

### 3.2.4 Mechanismus polymerizace jaderného aktinu u bakulovirů

Řada virových i buněčných proteinů je zapojena v mechanismech intranukleárního pohybu a formaci jaderného F-aktinu v buňkách infikovaných AcMNPV. Z buněčných proteinů se těchto procesů účastní G-aktin, Arp2/3 komplex a chaperon Hsp90 (Goley et al., 2006; Li et al., 2019). Z virových proteinů se jedná o hlavní kapsidový protein VP39 (J. Zhang et al., 2020), dále minoritní kapsidové proteiny P78/83 (Goley et al., 2006), C42 (Y. Wang et al., 2008), VP80 (Marek et al., 2011) a VP1054 (Guan et al., 2016), a také virové proteiny AC102 (Ohkawa et al., 2002) a Ac34 (Mu, Zhang, Hu, Hu, Zhou, Chen, et al., 2016; Mu, Zhang, Hu, Hu, Zhou, Zhao, et al., 2016) (Obrázek 6).

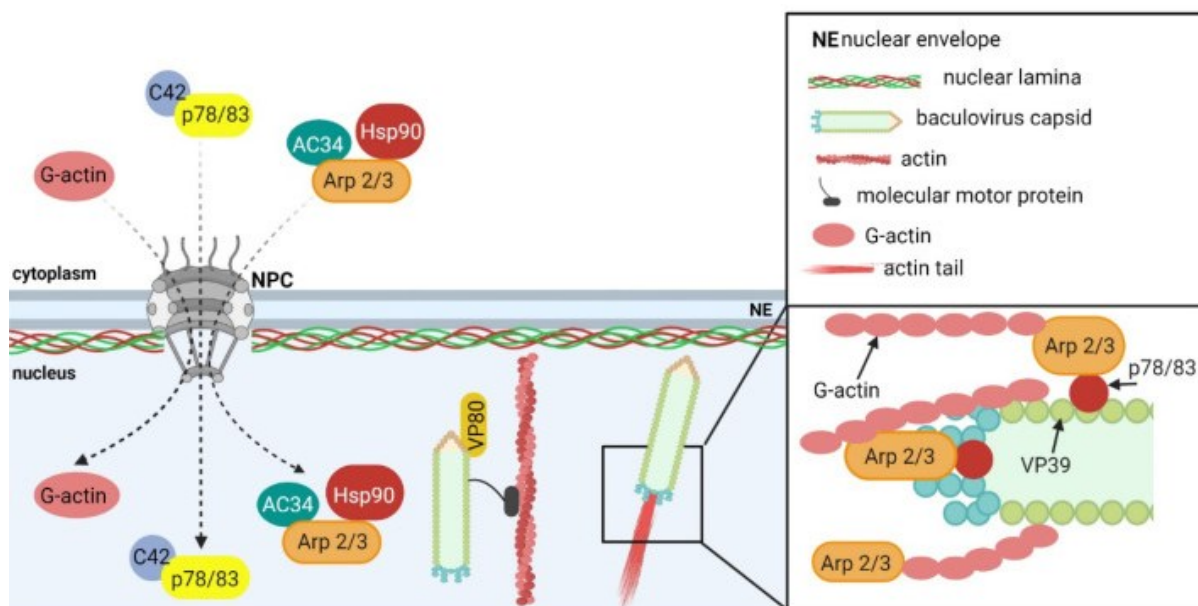
Arp2/3 komplex je aktivován proteinem P78/83, jak již bylo zmíněno v kapitole „Aktin-zprostředkovaný transport bakulovirů do jádra“, a umožňuje tak zahájení polymerizace jaderného aktinu (Goley et al., 2006). Chaperon Hsp90 se podílí na tomto procesu regulací P40 podjednotky komplexu Arp2/3. P40 umožňuje interakci komplexu Arp2/3 s P78/83 (Li et al., 2019).

Hlavní kapsidový protein VP39 přímo váže buněčný G-aktin a podporuje aktinovou polymerizaci, neboť delecí genu kódující tento protein nedochází ke tvorbě F-aktinu v jádře (J. Zhang et al., 2020). Minoritní kapsidový protein VP80 není přímo potřebný pro proces polymerizace, ale je nepostradatelný pro pohyb kapsid k jaderné periférii. VP80 je komponentou jak BV, tak ODV virionů a je typicky lokalizován pouze na jednom konci nukleokapsidy. Navíc byla u proteinu VP80 identifikována sekvenční homologie

s paramyozinovými proteiny bezobratlých, což podporuje jeho roli v polárním transportu nukleokapsid k periférii jádra. VP80 zprostředkovává interakci nukleokapsid s F-aktinem, čímž umožňuje transport nukleokapsid z virových replikačních center k jaderné periférii a jejich následný vstup z jádra do cytoplazmy (Marek et al., 2011). Stejně jako VP80, i minoritní kapsidový protein VP1054 se neúčastní přímo formace F-aktinu. Jeho úlohou je zajištění transportu kapsidových proteinů VP39 a 38K na místo sestavení nukleokapsid před samotným zahájením procesu jejich sestavení. VP1054 je také zodpovědný za integraci proteinů C42, P78/83 a 38K do kapsidových struktur, čímž dochází k maturaci kapsid (Guan et al., 2016). Poslední ze zmíněných minoritních kapsidových proteinů, protein C42, váže v cytoplazmě faktor P78/83 a zprostředkovává jeho přesun do jádra infikovaných buněk díky své NLS (Y. Wang et al., 2008).

Při infekci virem AcMNPV dochází k translokaci buněčného Arp2/3 komplexu do jádra a jeho hromadění v jádře. Virový protein Ac34, produkt pozdního genu, se na tomto procesu podílí. V přítomnosti Ac34 byla pozorována indukce jaderné lokalizace podjednotky P40 Arp2/3 komplexu a současně inhibice CRM1-dependetního jaderného exportu, čímž dochází k zadržení Arp2/3 komplexu v jádře (Mu, Zhang, Hu, Hu, Zhou, Zhao, et al., 2016). Dále byl studován vliv Ac34 na translokaci ostatních podjednotek komplexu Arp2/3. V buňkách *Spodoptera frugiperda* interaguje Ac34 s Arp2/3 podjednotkami P21, P20 a P34 a je tak zodpovědný za transport i těchto podjednotek do jádra (Mu, Zhang, Hu, Hu, Zhou, Chen, et al., 2016).

Role virového proteinu AC102 v infekci AcMNPV bude podrobněji probrána v následující podkapitole.



Obrázek 6: Mechanismy na aktinu závislého pohybu bakulovirových kapsid jádrem infikovaných buněk. Bakulovirová infekce indukuje akumulaci G-aktinu v buněčném jádře. Minoritní kapsidové proteiny C42 a p78/83 spolu interagují v cytoplasmě a v podobě komplexu jsou transportovány do jádra. Buněčný proteinový komplex Arp2/3 interaguje s buněčným chaperonem Hsp90 a virovým proteinem Ac34, což zajišťuje transport tohoto multiproteinového komplexu do jádra. Zde se minoritní kapsidové proteiny spolu s hlavním kapsidovým proteinem VP39 sestavují do nukleokapsid. Protein p78/83 interaguje s Arp2/3 komplexem a VP39 s G-aktinem, čímž je iniciována polymerizace aktinu na povrchu bakulovirové kapsidy (přiblížené schéma). Směřovaná polymerizace aktinu vytváří specifické dynamické struktury zvané aktinové komety, které zajišťuje pohyb kapsidy bakuloviru směrem k jaderné periferii. Alternativně využívají částice bakuloviru myozinové motorické funkce minoritního kapsidového proteinu VP80, který zprostředkovává pohyb kapsid podél F-aktinu k jaderné periferii. Převzato a upraveno z: (Horníková et al., 2022).

### 3.2.5 Translokace cytoplazmatického G-aktinu do jádra

Pro formování jaderných aktinových filament v pozdní fázi infekce AcMNPV je potřeba dostatečné množství monomerního aktinu v jádře. V časně fázi infekce se cytoplazmatický G-aktin přenáší do jádra, přičemž za mediátory tohoto procesu byly identifikovány produkty časných virových genů *ie-1*, *pe38*, *he65*, *Ac004*, *Ac102* a *Ac152* (Ohkawa et al., 2002). Nicméně pouze gen *Ac102* a jeho produkt AC102 se ukázaly být esenciálními jak pro translokaci G-aktinu, tak pro virovou replikaci (Gandhi et al., 2012).

AC102 je nukleokapsidový protein a je součástí komplexu skládajícího se z virových proteinů EC27, C42 a proteinu podporujícího polymerizaci aktinu P78/83. Jakožto komponenta tohoto komplexu se podílí na morfogenezi nukleokapsid, formaci virových replikačních struktur a tvorbě F-aktinu v jádře během pozdní fázi infekce (Hepp et al., 2018).

Studie vědců Zhang et al. zpochybnila nepostradatelnost proteinu AC102 při akumulaci G-aktinu v jádře. Po transfekci buněk exprimujících GFP-aktin bakmidem (plazmid

s modifikovaným bakulovirovým genomem) s delecí genu *Ac102* nebyl pozorován rozdíl v lokalizaci aktinu ve srovnání s transfekcí bakmidem bez delece. Protein AC102 byl tak shledán za postradatelný v procesu lokalizace cytoplazmatického G-aktinu do jádra při infekci bakulovirem (Y. Zhang et al., 2018).

### 3.3 Retroviry

Retroviry jsou sice obalené RNA viry, ale významná část jejich replikačního cyklu probíhá v buněčném jádře, kde je virový genom integrován po jeho reverzní transkripci v podobě DNA do hostitelského genomu (shrnuto v: Osega et al., 2024).

Interakce retrovirů s aktinem není dosud tak dobře popsána jako u herpesvirů či bakulovirů. Existuje však několik poznatků popisujících využití hostitelského aktinu retroviry, konkrétně u HIV-1 (Human immunodeficiency virus 1) z rodu lentivirus a MPMV (Mason–Pfizer monkey virus) z rodu betaretrovirus. Oba zástupci využívají jaderný aktin k transportu svých nesestřižených mRNA z jádra do cytoplazmy (Hofmann et al., 2001; Kimura et al., 2000).

Skupina vědců Kimura et al. detekovala v HeLa buňkách exprimujících HIV-1 virové mRNA jaderné aktinové svazky. S těmito svazky ko-lokalizovala *gag* mRNA, Rev protein, Xpo1 (Exportin 1, neboli CRM1) a GTPáza Ran. Po přidání latrunkulinu B došlo k inhibici exportu *gag* mRNA z jádra, zatímco export sestřižených *tat* a *rev* mRNA nebyl ovlivněn (Kimura et al., 2000). Export nesestřižených mRNA u HIV-1 je zprostředkován virovým proteinem Rev a vyžaduje účast translačního iniciačního faktoru eIF-5A (Eukaryotic initiation factor 5A), CRM1, několika nukleoporinů a jaderného aktin, který váže eIF-5A (Hofmann et al., 2001).

Ve viru MPMV byl zkoumán jaderný export nezávislý na proteinu Rev, neboť MPMV nekóduje žádný protein podobný proteinu Rev u HIV-1. Export nesestřižených mRNA je u něj umožněn přítomností RNA elementu zvaného CTE (Constitutive transport element), který interaguje s buněčným faktorem zajišťujícím jaderný export RNA (shrnuto v: Cullen, 2003). Na rozdíl od HIV-1 není při jaderném exportu mRNA u MPMV vyžadován translační iniciační faktor eIF-5A, nicméně i tak byla potvrzena nezbytnost jaderného aktinu (Hofmann et al., 2001).

### 3.4 Adenoviry

Adenoviry jsou dalšími DNA viry využívající ve svém infekčním cyklu jaderný aktin. Vlivem adenovirů dochází v infikovaných buňkách k drastickým změnám organizace jádra, včetně přesunu transkripčních faktorů a RNAPII do replikačních center. Do těchto center se ve střední fázi infekce přesouvá i jaderný aktin spolu s jadernými myoziny I, V (spíše na periferii) a VI (uvnitř). Narušení polymerizace aktinu přidáním latrunkulinu B či expresí mutantních forem aktinu neschopných polymerizace vede k významnému poklesu počtu buněk, v kterých dochází k virové replikaci. Kromě toho je polymerizace aktinu nezbytná i pro progresi adenovirové infekce, přesněji pro přechod ze střední fáze infekce do pozdní fáze (Fuchsova et al., 2015).

## 4. Závěr

V posledních desetiletích došlo k významnému posunu ve výzkumu aktinu jakožto regulátoru celé řady jaderných procesů. Mezi tyto procesy patří regulace všech tří typů RNA polymeráz a specifických transkripčních faktorů, účast při iniciaci i elongaci transkripce, remodelace a posuny chromatinu, oprava poškození DNA, remodelace replikačních vidliček a také prodlužování a přesun telomer v replikačním stresu. S přibývajícím studiem však rolí aktinu v jádře přibývá.

Přesné mechanismy, jimiž aktin přispívá ke každé z těchto funkcí, však dosud nejsou plně objasněny. Stejně tak zůstává nejasné, v jaké formě aktin v jádře dané funkce vykonává – kdy působí ve formě G-aktinu, a kdy v polymerizované formě, a jak se tato polymerizovaná forma liší od cytoplazmatického F-aktinu. Jedním z faktorů komplikující výzkum jaderného aktinu je použití latrunkulinu jakožto inhibitoru jeho polymerizace. Přidání latrunkulinu je pro buňky stresovým faktorem, na což buňka reaguje indukcí tvorby specifických aktinových filament. To může ovlivňovat výsledky studií zabývajících se dynamikou aktinových filament a komplikovat správnou interpretaci získaných dat.

Zajímavá je dvojí funkce komplexu SMC5/6 a PML NBs, s nimiž je jaderný aktin spojován v kontextu opravy poškození DNA. Jaderný aktin se podílí na přesunu PML NBs do míst poškození DNA, kde tyto struktury napomáhají efektivní opravě, zatímco komplex SMC5/6 je nezbytný pro aktin-dependentní přemístění heterochromatinových DSB k jaderné periferii, kde může dojít k jejich opravě. Tytéž struktury – PML NBs i SMC5/6- se navíc účastní potlačení transkripce viru hepatitidy B. Komplex SMC5/6 zachycuje virovou epizomální DNA, která je následně přemístěna k PML NBs, kde dochází k její transkripční represi (Niu et al., 2017). Funkční propojení mezi jaderným F-aktinem, SMC5/6 komplexem a PML NBs tak vytváří potenciální osu, která spojuje reakci na poškozenou DNA s vnitřní protivirovou obranou.

Role jaderného aktinu ve virové infekci je dosud nejlépe popsána u bakulovirů, které ho využívají v několika procesech svého životního cyklu – od morfogeneze kapsid a jejich transport od replikačních center k jaderné periferii až po následné pučení kapsid přes jadernou membránu. Výzkum zabývajícím se zapojením jaderného F-aktinu do transportu kapsid herpesvirů však přinesl kontroverzní výsledky. Zatímco některé studie jednoznačně prokazují formaci aktinových filament v jádře infikovaných buněk a jejich význam pro transport kapsid, jiné práce tyto nálezy zpochybňují a navrhují alternativní model, podle něhož se kapsidy v jádře

pohybují pasivní difúzí skrze interchromatinové prostory, jejichž objem je v důsledku infekce herpesvirem zvětšen. Tyto rozpory mohou vyplývat z rozdílů v použitých buněčných liniích, virových kmenech či typech inhibitorů aktinové polymerizace. V každém případě by se budoucí výzkum měl zaměřit na objasnění těchto rozdílných pozorování.

Jiné funkce jaderného aktinu byly popsány u retrovirů, kde se podílí na transportu nesestřížených mRNA z jádra do cytoplazmy, a u adenovirů, u nichž je nezbytný pro progresi infekce ze střední do pozdní fáze. Tyto poznatky však vycházejí z omezeného počtu studií a úloha jaderného aktinu v infekcích těmito viry tak zůstává nedostatečně objasněná.

Přestože je zřejmé, že jaderný aktin hraje klíčovou roli v řadě zásadních jaderných procesů, jeho zapojení do průběhu virových infekcí je dosud popsáno pouze u několika skupin virů. Naše znalosti v této oblasti tak zůstávají omezené, a je proto nezbytné rozšířit výzkum i na další virové skupiny, aby bylo možné plně porozumět roli jaderného aktinu v průběhu virové infekce.

## 5. Seznam použité literatury

(\* = přehledové články)

- \*Adam, S. A. (2017). The Nucleoskeleton. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(2).
- Ambrosino, C., Tarallo, R., Bamundo, A., Cuomo, D., Franci, G., Nassa, G., Paris, O., Ravo, M., Giovane, A., Zambrano, N., Lepikhova, T., Jänne, O. A., Baumann, M., Nyman, T. A., Cicatiello, L., & Weisz, A. (2010). Identification of a Hormone-regulated Dynamic Nuclear Actin Network Associated with Estrogen Receptor  $\alpha$  in Human Breast Cancer Cell Nuclei. *Molecular & Cellular Proteomics*, 9(6), 1352–1367.
- Andrin, C., McDonald, D., Attwood, K. M., Rodrigue, A., Ghosh, S., Mirzayans, R., Masson, J.-Y., Delleire, G., & Hendzel, M. J. (2012). A requirement for polymerized actin in DNA double-strand break repair. *Nucleus*, 3(4), 384–395.
- Au, S., Wu, W., Zhou, L., Theilmann, D. A., & Panté, N. (2016). A new mechanism for nuclear import by actin-based propulsion used by a baculovirus nucleocapsid. *Journal of Cell Science*, 129(15), 2905–2911.
- Aymard, F., Aguirrebengoa, M., Guillou, E., Javierre, B. M., Bugler, B., Arnould, C., Rocher, V., Iacovoni, J. S., Biernacka, A., Skrzypczak, M., Ginalski, K., Rowicka, M., Fraser, P., & Legube, G. (2017). Genome-wide mapping of long-range contacts unveils clustering of DNA double-strand breaks at damaged active genes. *Nature Structural & Molecular Biology*, 24(4), 353–361.
- Baarlink, C., Wang, H., & Grosse, R. (2013). Nuclear Actin Network Assembly by Formins Regulates the SRF Coactivator MAL. *Science*, 340(6134), 864–867.
- Barden, J. A., Tulloch, P. A., & dos Remedios, C. G. (1981). Crystalline actin tubes. IV. Structural information on actin monomers obtained from computer-averaged lattice images. *Journal of Biochemistry*, 90(1), 287–290.
- Belin, B. J., Lee, T., & Mullins, R. D. (2015). DNA damage induces nuclear actin filament assembly by Formin -2 and Spire- $\frac{1}{2}$  that promotes efficient DNA repair. *eLife*, 4, e07735.
- \*Blissard, G. W., & Theilmann, D. A. (2018). Baculovirus Entry and Egress from Insect Cells. *Annual Review of Virology*, 5, 113–139.
- Bosse, J. B., Hogue, I. B., Feric, M., Thiberge, S. Y., Sodeik, B., Brangwynne, C. P., & Enquist, L. W. (2015). Remodeling nuclear architecture allows efficient transport of herpesvirus capsids by diffusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(42), E5725-5733.

- Bosse, J. B., Viriding, S., Thiberge, S. Y., Scherer, J., Wodrich, H., Ruzsics, Z., Koszinowski, U. H., & Enquist, L. W. (2014). Nuclear herpesvirus capsid motility is not dependent on F-actin. *mBio*, 5(5), e01909-01914.
- Cameron, R. S., Liu, C., Mixon, A. S., Pihkala, J. P. S., Rahn, R. J., & Cameron, P. L. (2007). Myosin16b: The COOH-tail region directs localization to the nucleus and overexpression delays S-phase progression. *Cell Motility*, 64(1), 19–48.
- Caridi, C. P., D'Agostino, C., Ryu, T., Zapotoczny, G., Delabaere, L., Li, X., Khodaverdian, V. Y., Amaral, N., Lin, E., Rau, A. R., & Chiolo, I. (2018). Nuclear F-actin and myosins drive relocalization of heterochromatic breaks. *Nature*, 559(7712), 54–60.
- \*Chang, H. R., Munkhjargal, A., Kim, M.-J., Park, S. Y., Jung, E., Ryu, J.-H., Yang, Y., Lim, J.-S., & Kim, Y. (2018). The functional roles of PML nuclear bodies in genome maintenance. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 809, 99–107.
- Chang, L., Godinez, W. J., Kim, I.-H., Tektonidis, M., de Lanerolle, P., Eils, R., Rohr, K., & Knipe, D. M. (2011). Herpesviral replication compartments move and coalesce at nuclear speckles to enhance export of viral late mRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(21), E136-144.
- Charlton, C. A., & Volkman, L. E. (1991). Sequential rearrangement and nuclear polymerization of actin in baculovirus-infected *Spodoptera frugiperda* cells. *Journal of Virology*, 65(3), 1219–1227.
- Charlton, C. A., & Volkman, L. E. (1993). Penetration of *Autographa californica* Nuclear Polyhedrosis Virus Nucleocapsids into IPLB Sf 21 Cells Induces Actin Cable Formation. *Virology*, 197(1), 245–254.
- Chatzifrangkeskou, M., Pefani, D.-E., Eyres, M., Vendrell, I., Fischer, R., Pankova, D., & O'Neill, E. (2019). RASSF1A is required for the maintenance of nuclear actin levels. *The EMBO Journal*, 38(16), e101168.
- Chuang, C. H., Carpenter, A. E., Fuchsova, B., Johnson, T., de Lanerolle, P., & Belmont, A. S. (2006). Long-Range Directional Movement of an Interphase Chromosome Site. *Current Biology*, 16(8), 825–831.
- Clark, T. G., & Merriam, R. W. (1977). Diffusible and bound actin in nuclei of *xenopus laevis* oocytes. *Cell*, 12(4), 883–891.
- Clattenburg, R. E., Singh, R. P., & Montemurro, D. G. (1972). Intranuclear filamentous inclusions in neurons of the rabbit hypothalamus. *Journal of Ultrastructure Research*, 39(5), 549–555.

- Cobb, A. M., De Silva, S. A., Hayward, R., Sek, K., Ulferts, S., Grosse, R., & Shanahan, C. M. (2022). Filamentous nuclear actin regulation of PML NBs during the DNA damage response is deregulated by prelamin A. *Cell Death & Disease*, 13(12), 1042.
- Cramer, P., Bushnell, D. A., & Kornberg, R. D. (2001). Structural Basis of Transcription: RNA Polymerase II at 2.8 Ångstrom Resolution. *Science*, 292(5523), 1863–1876.
- \*Cullen, B. R. (2003). Nuclear mRNA export: Insights from virology. *Trends in Biochemical Sciences*, 28(8), 419–424.
- \*Dominguez, R., & Holmes, K. C. (2011). Actin structure and function. *Annual Review of Biophysics*, 40, 169–186.
- Dopie, J., Skarp, K.-P., Rajakylä, E. K., Tanhuanpää, K., & Vartiainen, M. K. (2012). Active maintenance of nuclear actin by importin 9 supports transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(9), E544–552.
- Du, J., Fan, Y.-L., Chen, T.-L., & Feng, X.-Q. (2015). Lifeact and Utr230 induce distinct actin assemblies in cell nuclei. *Cytoskeleton*, 72(11), 570–575.
- Dundr, M., Ospina, J. K., Sung, M.-H., John, S., Upender, M., Ried, T., Hager, G. L., & Matera, A. G. (2007). Actin-dependent intranuclear repositioning of an active gene locus in vivo. *The Journal of Cell Biology*, 179(6), 1095–1103.
- Feierbach, B., Piccinotti, S., Bisher, M., Denk, W., & Enquist, L. W. (2006). Alpha-herpesvirus infection induces the formation of nuclear actin filaments. *PLoS Pathogens*, 2(8), e85.
- Feric, M., & Brangwynne, C. P. (2013). A nuclear F-actin scaffold stabilizes ribonucleoprotein droplets against gravity in large cells. *Nature Cell Biology*, 15(10), 1253–1259.
- Finlan, L. E., Sproul, D., Thomson, I., Boyle, S., Kerr, E., Perry, P., Ylstra, B., Chubb, J. R., & Bickmore, W. A. (2008). Recruitment to the nuclear periphery can alter expression of genes in human cells. *PLoS Genetics*, 4(3), e1000039.
- Fomproix, N., & Percipalle, P. (2004). An actin–myosin complex on actively transcribing genes. *Experimental Cell Research*, 294(1), 140–148.
- Fuchsova, B., Serebryanny, L. A., & de Lanerolle, P. (2015). Nuclear actin and myosins in adenovirus infection. *Experimental Cell Research*, 338(2), 170–182.
- Fukui, Y. (1978). Intranuclear actin bundles induced by dimethyl sulfoxide in interphase nucleus of Dictyostelium. *Journal of Cell Biology*, 76(1), 146–157.
- Fukui, Y., & Katsumaru, H. (1979). Nuclear actin bundles in Amoeba, dictyostelium and human HeLa cells induced by dimethyl sulfoxide. *Experimental Cell Research*, 120(2), 451–455.

- Galarneau, L., Nourani, A., Boudreault, A. A., Zhang, Y., Héliot, L., Allard, S., Savard, J., Lane, W. S., Stillman, D. J., & Côté, J. (2000). Multiple links between the NuA4 histone acetyltransferase complex and epigenetic control of transcription. *Molecular Cell*, 5(6), 927–937.
- Gandhi, K. M., Ohkawa, T., Welch, M. D., & Volkman, L. E. (2012). Nuclear localization of actin requires AC102 in *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus-infected cells. *The Journal of General Virology*, 93(Pt 8), 1795–1803.
- Goley, E. D., Ohkawa, T., Mancuso, J., Woodruff, J. B., D'Alessio, J. A., Cande, W. Z., Volkman, L. E., & Welch, M. D. (2006). Dynamic Nuclear Actin Assembly by Arp2/3 Complex and a Baculovirus WASP-Like Protein. *Science*, 314(5798), 464–467.
- Gonsior, S. M., Platz, S., Buchmeier, S., Scheer, U., Jockusch, B. M., & Hinssen, H. (1999). Conformational difference between nuclear and cytoplasmic actin as detected by a monoclonal antibody. *Journal of Cell Science*, 112(6), 797–809.
- Grzanka, D., Marszałek, A., Izdebska, M., Gackowska, L., Andrzej Szczepanski, M., & Grzanka, A. (2011). Actin Cytoskeleton Reorganization Correlates with Cofilin Nuclear Expression and Ultrastructural Changes in CHO AA8 Cell Line after Apoptosis and Mitotic Catastrophe Induction by Doxorubicin. *Ultrastructural Pathology*, 35(3), 130–138.
- Guan, Z., Zhong, L., Li, C., Wu, W., Yuan, M., & Yang, K. (2016). The *Autographa californica* Multiple Nucleopolyhedrovirus ac54 Gene Is Crucial for Localization of the Major Capsid Protein VP39 at the Site of Nucleocapsid Assembly. *Journal of Virology*, 90(8), 4115–4126.
- Harman, A., Kartawinata, M., Maroun, N. M., Nguyen, D. R., Hughes, W. E., Winardi, K., Cesare, A. J., Lamm, N., & Bryan, T. M. (2024). Nuclear actin and DNA replication stress regulate the recruitment of human telomerase to telomeres. *bioRxiv*, 2024.03.25.586711.
- Hepp, S. E., Borgo, G. M., Ticau, S., Ohkawa, T., & Welch, M. D. (2018). Baculovirus AC102 Is a Nucleocapsid Protein That Is Crucial for Nuclear Actin Polymerization and Nucleocapsid Morphogenesis. *Journal of Virology*, 92(11).
- Herman, I. M. (1993). Actin isoforms. *Current Opinion in Cell Biology*, 5(1), 48–55.
- Hofmann, W. A., Stojiljkovic, L., Fuchsova, B., Vargas, G. M., Mavrommatis, E., Philimonenko, V., Kysela, K., Goodrich, J. A., Lessard, J. L., Hope, T. J., Hozak, P., & de Lanerolle, P. (2004). Actin is part of pre-initiation complexes and is necessary for transcription by RNA polymerase II. *Nature Cell Biology*, 6(11), 1094–1101.
- Hofmann, W. A., Vargas, G. M., Ramchandran, R., Stojiljkovic, L., Goodrich, J. A., & De Lanerolle, P. (2006). Nuclear myosin I is necessary for the formation of the first

- phosphodiester bond during transcription initiation by RNA polymerase II. *Journal of Cellular Biochemistry*, 99(4), 1001–1009.
- Hofmann, W. A., Reichart, B., Ewald, A., Müller, E., Schmitt, I., Stauber, R. H., Lottspeich, F., Jockusch, B. M., Scheer, U., Hauber, J., & Dabauvalle, M. C. (2001). Cofactor requirements for nuclear export of Rev response element (RRE)- and constitutive transport element (CTE)-containing retroviral RNAs. An unexpected role for actin. *The Journal of Cell Biology*, 152(5), 895–910.
- \*Horníková, L., Bruštíková, K., Huérfano, S., & Forstová, J. (2022). Nuclear Cytoskeleton in Virus Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 578.
- Hu, P., Wu, S., & Hernandez, N. (2004). A role for beta-actin in RNA polymerase III transcription. *Genes & Development*, 18(24), 3010–3015.
- Hurst, V., Shimada, K., & Gasser, S. M. (2019). Nuclear Actin and Actin-Binding Proteins in DNA Repair. *Trends in Cell Biology*, 29(6), 462–476.
- Jockusch, B. M., Brown Donna F., & Rusch Harold P. (1971). Synthesis and Some Properties of an Actin-Like Nuclear Protein in the Slime Mold *Physarum polycephalum*. *Journal of Bacteriology*, 108(2), 705–714.
- Kalendová, A., Kalasová, I., Yamazaki, S., Uličná, L., Harata, M., & Hozák, P. (2014). Nuclear actin filaments recruit cofilin and actin-related protein 3, and their formation is connected with a mitotic block. *Histochemistry and Cell Biology*, 142(2), 139–152.
- Kapoor, P., Chen, M., Winkler, D. D., Luger, K., & Shen, X. (2013). Evidence for monomeric actin function in INO80 chromatin remodeling. *Nature Structural & Molecular Biology*, 20(4), 426–432.
- \*Kelsch, D. J., & Tootle, T. L. (2018). Nuclear Actin: From Discovery to Function. *Anatomical Record*, 301(12), 1999–2013.
- Keminer, O., & Peters, R. (1999). Permeability of single nuclear pores. *Biophysical Journal*, 77(1), 217–228.
- Khanna, N., Hu, Y., & Belmont, A. S. (2014). HSP70 transgene directed motion to nuclear speckles facilitates heat shock activation. *Current Biology*, 24(10), 1138–1144.
- Kimura, T., Hashimoto, I., Yamamoto, A., Nishikawa, M., & Fujisawa, J. (2000). Rev-dependent association of the intron-containing HIV-1 gag mRNA with the nuclear actin bundles and the inhibition of its nucleocytoplasmic transport by latrunculin-B. *Genes to Cells*, 5(4), 289–307.
- Kocks, C., Gouin, E., Tabouret, M., Berche, P., Ohayon, H., & Cossart, P. (1992). L. monocytogenes-induced actin assembly requires the actA gene product, a surface protein. *Cell*, 68(3), 521–531.

- Kokai, E., Beck, H., Weissbach, J., Arnold, F., Sinske, D., Sebert, U., Gaiselmann, G., Schmidt, V., Walther, P., Münch, J., Posern, G., & Knöll, B. (2014). Analysis of nuclear actin by overexpression of wild-type and actin mutant proteins. *Histochemistry and Cell Biology*, 141(2), 123–135.
- Kukalev, A., Nord, Y., Palmberg, C., Bergman, T., & Percipalle, P. (2005). Actin and hnRNP U cooperate for productive transcription by RNA polymerase II. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12(3), 238–244.
- Lane, N. J. (1969). Intranuclear fibrillar bodies in actinomycin D-treated oocytes. *The Journal of Cell Biology*, 40(1), 286–291.
- Li, S., Wang, Y., Hou, D., Guan, Z., Shen, S., Peng, K., Deng, F., Chen, X., Hu, Z., Wang, H., & Wang, M. (2019). Host factor heat-shock protein 90 contributes to baculovirus budded virus morphogenesis via facilitating nuclear actin polymerization. *Virology*, 535, 200–209.
- Marek, M., Merten, O.-W., Galibert, L., Vlak, J. M., & van Oers, M. M. (2011). Baculovirus VP80 protein and the F-actin cytoskeleton interact and connect the viral replication factory with the nuclear periphery. *Journal of Virology*, 85(11), 5350–5362.
- Matsuzaki, F., Matsumoto, S., Yahara, I., Yonezawa, N., Nishida, E., & Sakai, H. (1988). Cloning and characterization of porcine brain cofilin cDNA. Cofilin contains the nuclear transport signal sequence. *Journal of Biological Chemistry*, 263(23), 11564–11568.
- McDonald, D., Carrero, G., Andrin, C., de Vries, G., & Hendzel, M. J. (2006). Nucleoplasmic beta-actin exists in a dynamic equilibrium between low-mobility polymeric species and rapidly diffusing populations. *The Journal of Cell Biology*, 172(4), 541–552.
- Melak, M., Plessner, M., & Grosse, R. (2017). Actin visualization at a glance. *Journal of Cell Science*, 130(3), 525–530.
- Miranda, A. F., & Godman, G. C. (1973). The effects of cytochalasin D on differentiating muscle in culture. *Tissue and Cell*, 5(1), 1–22.
- Miyamoto, K., Teperek, M., Yusa, K., Allen, G. E., Bradshaw, C. R., & Gurdon, J. B. (2013). Nuclear Wave1 is required for reprogramming transcription in oocytes and for normal development. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6149), 1002–1005.
- Mourón, S., Rodríguez-Acebes, S., Martínez-Jiménez, M. I., García-Gómez, S., Chocrón, S., Blanco, L., & Méndez, J. (2013). Repriming of DNA synthesis at stalled replication forks by human PrimPol. *Nature Structural & Molecular Biology*, 20(12), 1383–1389.

- Mu, J., Zhang, Y., Hu, Y., Hu, X., Zhou, Y., Chen, X., & Wang, Y. (2016). The role of viral protein Ac34 in nuclear relocation of subunits of the actin-related protein 2/3 complex. *Virologica Sinica*, 31(6), 480–489.
- Mu, J., Zhang, Y., Hu, Y., Hu, X., Zhou, Y., Zhao, H., Pei, R., Wu, C., Chen, J., Zhao, H., Yang, K., Oers, M. M. van, Chen, X., & Wang, Y. (2016). Autographa californica Multiple Nucleopolyhedrovirus Ac34 Protein Retains Cellular Actin-Related Protein 2/3 Complex in the Nucleus by Subversion of CRM1-Dependent Nuclear Export. *PLoS Pathogens*, 12(11), e1005994.
- Mueller, J., Pfanzelter, J., Winkler, C., Narita, A., Le Clainche, C., Nemethova, M., Carlier, M.-F., Maeda, Y., Welch, M. D., Ohkawa, T., Schmeiser, C., Resch, G. P., & Small, J. V. (2014). Electron Tomography and Simulation of Baculovirus Actin Comet Tails Support a Tethered Filament Model of Pathogen Propulsion. *PLOS Biology*, 12(1), e1001765.
- Nagasaki, A., Katoh, K., Hoshi, M., Doi, M., Nakamura, C., & Uyeda, T. Q. P. (2022). Characterization of phalloidin-negative nuclear actin filaments in U2OS cells expressing cytoplasmic actin-EGFP. *Genes to Cells*, 27(5), 317–330.
- \*Nassour, J., Schmidt, T. T., & Karlseder, J. (2021). Telomeres and Cancer: Resolving the Paradox. *Annual Review of Cancer Biology*, 5(1), 59–77.
- \*Neelsen, K. J., & Lopes, M. (2015). Replication fork reversal in eukaryotes: From dead end to dynamic response. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(4), 207–220.
- Nishida, E., Iida, K., Yonezawa, N., Koyasu, S., Yahara, I., & Sakai, H. (1987). Cofilin is a component of intranuclear and cytoplasmic actin rods induced in cultured cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(15), 5262–5266.
- Niu, C., Livingston, C. M., Li, L., Beran, R. K., Daffis, S., Ramakrishnan, D., Burdette, D., Peiser, L., Salas, E., Ramos, H., Yu, M., Cheng, G., Strubin, M., Delaney IV, W. E., & Fletcher, S. P. (2017). The Smc5/6 Complex Restricts HBV when Localized to ND10 without Inducing an Innate Immune Response and Is Counteracted by the HBV X Protein Shortly after Infection. *PLOS ONE*, 12(1), e0169648.
- Obrdlik, A., Kukalev, A., Louvet, E., Farrants, A.-K. O., Caputo, L., & Percipalle, P. (2008). The histone acetyltransferase PCAF associates with actin and hnRNP U for RNA polymerase II transcription. *Molecular and Cellular Biology*, 28(20), 6342–6357.
- Ohkawa, T., Rowe, A. R., & Volkman, L. E. (2002). Identification of six Autographa californica multicapsid nucleopolyhedrovirus early genes that mediate nuclear localization of G-actin. *Journal of Virology*, 76(23), 12281–12289.
- Ohkawa, T., & Volkman, L. E. (1999). Nuclear F-Actin Is Required for AcMNPV Nucleocapsid Morphogenesis. *Virology*, 264(1), 1–4.

- Ohkawa, T., Volkman, L. E., & Welch, M. D. (2010). Actin-based motility drives baculovirus transit to the nucleus and cell surface. *Journal of Cell Biology*, 190(2), 187–195.
- Ohkawa, T., & Welch, M. D. (2018). Baculovirus Actin-Based Motility Drives Nuclear Envelope Disruption and Nuclear Egress. *Current Biology*, 28(13), 2153–2159.
- Ohnishi, T., Kawamura, H., & Yamamoto, T. (1963). Extraction of a protein resembling actin from the cell nucleus of the calf thymus. *Journal of biochemistry*, 54, 298–300.
- \*Percipalle, P. (2012). Co-transcriptional nuclear actin dynamics. *Nucleus*, 4(1), 43–52.
- \*Osega, C. E., Bustos, F. J., & Arriagada, G. (2024). From Entry to the Nucleus: How Retroviruses Commute. *Annual Review of Virology*, 11, 89–104.
- Oza, P., Jaspersen, S. L., Miele, A., Dekker, J., & Peterson, C. L. (2009). Mechanisms that regulate localization of a DNA double-strand break to the nuclear periphery. *Genes & Development*, 23(8), 912–927.
- Palumbieri, M. D., Merigliano, C., González-Acosta, D., Kuster, D., Krietsch, J., Stoy, H., von Känel, T., Ulferts, S., Welter, B., Frey, J., Doerdelmann, C., Sanchi, A., Grosse, R., Chiolo, I., & Lopes, M. (2023). Nuclear actin polymerization rapidly mediates replication fork remodeling upon stress by limiting PrimPol activity. *Nature Communications*, 14(1), 7819.
- Pendleton, A., Pope, B., Weeds, A., & Koffer, A. (2003). Latrunculin B or ATP Depletion Induces Cofilin-dependent Translocation of Actin into Nuclei of Mast Cells\*. *Journal of Biological Chemistry*, 278(16), 14394–14400.
- Percipalle, P., Fomproix, N., Kylberg, K., Miralles, F., Björkroth, B., Daneholt, B., & Visa, N. (2003). An actin–ribonucleoprotein interaction is involved in transcription by RNA polymerase II. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6475–6480.
- Percipalle, P., Zhao, J., Pope, B., Weeds, A., Lindberg, U., & Daneholt, B. (2001). Actin bound to the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein hrp36 is associated with Balbiani ring mRNA from the gene to polysomes. *The Journal of Cell Biology*, 153(1), 229–236.
- Pestic-Dragovich, L., Stojiljkovic, L., Philimonenko, A. A., Nowak, G., Ke, Y., Settlage, R. E., Shabanowitz, J., Hunt, D. F., Hozak, P., & de Lanerolle, P. (2000). A Myosin I Isoform in the Nucleus. *Science*, 290(5490), 337–341.
- Philimonenko, V. V., Zhao, J., Iben, S., Dingová, H., Kyselá, K., Kahle, M., Zentgraf, H., Hofmann, W. A., de Lanerolle, P., Hozák, P., & Grummt, I. (2004). Nuclear actin and myosin I are required for RNA polymerase I transcription. *Nature Cell Biology*, 6(12), 1165–1172.

- Pinzaru, A. M., Kareh, M., Lamm, N., Lazzerini-Denchi, E., Cesare, A. J., & Sfeir, A. (2020). Replication stress conferred by POT1 dysfunction promotes telomere relocalization to the nuclear pore. *Genes & Development*, 34(23–24), 1619–1636.
- \*Pollard, T. D., & Cooper, J. A. (2009). Actin, a Central Player in Cell Shape and Movement. *Science*, 326(5957), 1208–1212.
- Qi, T., Tang, W., Wang, L., Zhai, L., Guo, L., & Zeng, X. (2011). G-actin participates in RNA polymerase II-dependent transcription elongation by recruiting positive transcription elongation factor b (P-TEFb). *The Journal of Biological Chemistry*, 286(17), 15171–15181.
- \*Roberts, K. L., & Baines, J. D. (2011). Actin in herpesvirus infection. *Viruses*, 3(4), 336–346.
- \*Saidova, A. A., & Vorobjev, I. A. (2024). What Actin and Myosin Do in the Nucleus: New Functions of the Well-Known Proteins. *Molekuliarnaia biologii*, 58(3), 349–362.
- Sanger, J. W., Sanger, J. M., Kreis, T. E., & Jockusch, B. M. (1980). Reversible translocation of cytoplasmic actin into the nucleus caused by dimethyl sulfoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(9), 5268–5272.
- Schoenenberger, C.-A., Buchmeier, S., Boerries, M., Sütterlin, R., Aebi, U., & Jockusch, B. M. (2005). Conformation-specific antibodies reveal distinct actin structures in the nucleus and the cytoplasm. *Journal of Structural Biology*, 152(3), 157–168.
- Schrank, B. R., Aparicio, T., Li, Y., Chang, W., Chait, B. T., Gunderson, G. G., Gottesman, M. E., & Gautier, J. (2018). Nuclear ARP2/3 drives DNA break clustering for homology-directed repair. *Nature*, 559(7712), 61–66.
- \*Scully, R., Panday, A., Elango, R., & Willis, N. A. (2019). DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(11), 698–714.
- Serebryanny, L. A., Cruz, C. M., & de Lanerolle, P. (2016). A Role for Nuclear Actin in HDAC 1 and 2 Regulation. *Scientific Reports*, 6, 28460.
- Serebryanny, L. A., Parilla, M., Annibale, P., Cruz, C. M., Laster, K., Gratton, E., Kudryashov, D., Kosak, S. T., Gottardi, C. J., & de Lanerolle, P. (2016). Persistent nuclear actin filaments inhibit transcription by RNA polymerase II. *Journal of Cell Science*, 129(18), 3412–3425.
- Shen, X., Mizuguchi, G., Hamiche, A., & Wu, C. (2000). A chromatin remodeling complex involved in transcription and DNA processing. *Nature*, 406, 541–544.
- Shen, X., Ranallo, R., Choi, E., & Wu, C. (2003). Involvement of Actin-Related Proteins in ATP-Dependent Chromatin Remodeling. *Molecular Cell*, 12(1), 147–155.

- Sjölinder, M., Björk, P., Söderberg, E., Sabri, N., Farrants, A.-K. O., & Visa, N. (2005). The growing pre-mRNA recruits actin and chromatin-modifying factors to transcriptionally active genes. *Genes & Development*, 19(16), 1871–1884.
- \*Spector, D. L. (2003). The dynamics of chromosome organization and gene regulation. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 573–608.
- Straub, F. B. (1943). Actin, ii. *Studies from the Institute of Medical Chemistry University Szeged*, 3, 23–37.
- Stüven, T., Hartmann, E., & Görlich, D. (2003). Exportin 6: A novel nuclear export receptor that is specific for profilin.actin complexes. *The EMBO Journal*, 22(21), 5928–5940.
- Tilney, L. G., & Portnoy, D. A. (1989). Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. *Journal of Cell Biology*, 109(4), 1597–1608.
- Vandekerckhove, J., & Weber, K. (1978a). At least six different actins are expressed in a higher mammal: An analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide. *Journal of Molecular Biology*, 126(4), 783–802.
- Vandekerckhove, J., & Weber, K. (1978b). Actin amino-acid sequences. Comparison of actins from calf thymus, bovine brain, and SV40-transformed mouse 3T3 cells with rabbit skeletal muscle actin. *European Journal of Biochemistry*, 90(3), 451–462.
- Vartiainen, M. K., Guettler, S., Larijani, B., & Treisman, R. (2007). Nuclear Actin Regulates Dynamic Subcellular Localization and Activity of the SRF Cofactor MAL. *Science*, 316(5832), 1749–1752.
- Volkman, L. E. (1988). Autographa californica MNPV nucleocapsid assembly: Inhibition by cytochalasin D. *Virology*, 163(2), 547–553.
- Wada, A., Fukuda, M., Mishima, M., & Nishida, E. (1998). Nuclear export of actin: A novel mechanism regulating the subcellular localization of a major cytoskeletal protein. *The EMBO Journal*, 17(6), 1635–1641.
- Wang, A., Kolhe, J. A., Gioacchini, N., Baade, I., Briehner, W. M., Peterson, C. L., & Freeman, B. C. (2020). Mechanism of Long-Range Chromosome Motion Triggered by Gene Activation. *Developmental Cell*, 52(3), 309–320.
- Wang, Y., Wang, Q., Liang, C., Song, J., Li, N., Shi, H., & Chen, X. (2008). Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus nucleocapsid protein BV/ODV-C42 mediates the nuclear entry of P78/83. *Journal of Virology*, 82(9), 4554–4561.
- Welch, M. D., Iwamatsu, A., & Mitchison, T. J. (1997). Actin polymerization is induced by Arp 2/3 protein complex at the surface of *Listeria monocytogenes*. *Nature*, 385(6613), 265–269.

- Welch, W. J., & Suhan, J. P. (1985). Morphological study of the mammalian stress response: Characterization of changes in cytoplasmic organelles, cytoskeleton, and nucleoli, and appearance of intranuclear actin filaments in rat fibroblasts after heat-shock treatment. *Journal of Cell Biology*, 101(4), 1198–1211.
- Wilkie, A. R., Sharma, M., Pesola, J. M., Ericsson, M., Fernandez, R., & Coen, D. M. (2018). A Role for Myosin Va in Human Cytomegalovirus Nuclear Egress. *Journal of Virology*, 92(6), 10.1128/jvi.01849-17.
- Wilkie A. R., Lawler J. L., & Coen D. M. (2016). A Role for Nuclear F-Actin Induction in Human Cytomegalovirus Nuclear Egress. *mBio*, 7:10.1128/mbio.01254-16.
- Wu, X., Yoo, Y., Okuhama, N. N., Tucker, P. W., Liu, G., & Guan, J.-L. (2006). Regulation of RNA-polymerase-II-dependent transcription by N-WASP and its nuclear-binding partners. *Nature Cell Biology*, 8(7), 756–763.
- Xia, P., Wang, S., Huang, G., Zhu, P., Li, M., Ye, B., Du, Y., & Fan, Z. (2014). WASH is required for the differentiation commitment of hematopoietic stem cells in a c-Myc-dependent manner. *The Journal of Experimental Medicine*, 211(10), 2119–2134.
- Xie, X., Almuzzaini, B., Drou, N., Kremb, S., Yousif, A., Farrants, A.-K. Ö., Gunsalus, K., & Percipalle, P. (2018).  $\beta$ -Actin-dependent global chromatin organization and gene expression programs control cellular identity. *The FASEB Journal*, 32(3), 1296–1314.
- Zhang, J., Li, Y., Zhao, S., & Wu, X. (2020). Identification of A functional region in Bombyx mori nucleopolyhedrovirus VP39 that is essential for nuclear actin polymerization. *Virology*, 550, 37–50.
- Zhang, Y., Hu, X., Mu, J., Hu, Y., Zhou, Y., Zhao, H., Wu, C., Pei, R., Chen, J., Chen, X., & Wang, Y. (2018). Ac102 Participates in Nuclear Actin Polymerization by Modulating BV/ODV-C42 Ubiquitination during *Autographa californica* Multiple Nucleopolyhedrovirus Infection. *Journal of Virology*, 92(12), 10.1128/jvi.00005-18.
- Zhao, K., Wang, W., Rando, O. J., Xue, Y., Swiderek, K., Kuo, A., & Crabtree, G. R. (1998). Rapid and Phosphoinositol-Dependent Binding of the SWI/SNF-like BAF Complex to Chromatin after T Lymphocyte Receptor Signaling. *Cell*, 95(5), 625–636.