



Válaszok Dr. Mihály József kérdéseire

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet a nagydoktori értekezésemről készített alapos és nagy ívű bírálatáért. Külön hálával tartozom azért az időért és energiáért, amelyet munkám részletekbe menő elemzésére fordított. A doktori disszertáció elütéseit javítottam. A kérdésekre adott válaszaim a következők:

- 1. Tökéletes átfedést mutat-e a MP és az MYPT1 kifejeződési mintázata a központi idegrendszerben? Ki lehet-e zárni, hogy az MYPT1 a MP-től független mechanizmusok útján is képes befolyásolni a sejtes folyamatokat? Hogyan képzeljük el pontosan a MYPT1 és a defoszforiláció szerepét a neurotranszmitter felszabadulás szabályozásában? Tekinthejtük ezt egy obligát lépésnek, ami feltétlenül szükséges a vezikula „priming”-hoz, vagy itt valami finomabb, komplexebb szabályozás valósul meg? Ismert-e valamilyen visszacsatoló mechanizmus a vezikula felszabadulás Ca^{2+} ion beáramlás által szabályozott utolsó lépése és a foszforiláció szintjén megvalósuló szabályozási lépések között? Vannak-e nagyfelbontású fehérje lokalizációs adatok a MP/MYPT1 komplexre a preszinaptikus térben a szinaptikus vezikulákhoz képest? Tipikus-e, hogy ez a protein foszfatáz komplex specifikus sejten belüli felhalmozódást mutat vagy jellemzőbb az egységes citoplazmás eloszlás?***

A miozin-foszfatáz (MP) és annak regulátor alegysége, az MYPT1, a szinaptikus plaszticitás és a neurotranszmisszió szabályozásának szereplői. Bár a MYPT1 (Myosin Phosphatase Target subunit 1) a MP holoenzim szabályozó alegysége, és elsősorban a PP1c delta izoformával hozza létre a MP holoenzimet, mégsem mutat 100%-os átfedést a PP1c β/δ katalitikus alegységgel. Ez alátámasztja azt a nézetet, hogy mindkét fehérjének lehetnek a másiktól független feladatai is a központi idegrendszerben. Bizonyos agyterületeken az MYPT1 szintje magasabb, mint a PP1c katalitikus alegységéé, ami arra utal, hogy az MYPT1-nek a PP1-től független funkciói is lehetnek [1].

Munkacsoportunk a teljes agyi területen feltérképezte a MYPT1 expresszióját [1], míg *Nairn és mtsai* mutatták be a különböző PP1c izoformák agyi expressziós különbségeit [2]. Ezen eredmények és az Allen Human Brain Atlas (AHBA) microarray-alapú adatai alapján a következő átfedéseket találtuk: mind a PP1c β/δ , mind az MYPT1 kifejezetten magas szinten van jelen a piramissejtekben (CA1-CA3 régiók) és a gyrus dentatus szemcsesejtjeiben. Ez összefügg a szinaptikus plaszticitásban (LTP/LTD) betöltött szerepükkel. Az MYPT1 rendkívül erős



expressziót mutat a Purkinje-sejteken. A PP1c β/δ szintén jelen van itt, de eloszlása egyenletesebb a kisagyi rétegek között. Mindkét fehérje megtalálható a rétegek mentén, de a PP1c β/δ expressziója általában "diffúzabb", mivel ez a katalitikus alegység más regulátor fehérjékhez (pl. spinofilin, neurabin) is kötődhet. Az egyik lehetséges magyarázat, hogy a PP1c β/δ számos más, szabályozó alegységgel is létrehozhat holoenzimet, így különböző szabályozó alegységek más és más neurofiziológiai folyamatokat szabályoznak. Ilyen a spinofilin (PPP1R9B), amely a legjelentősebb PP1-kötő fehérje a dendritikus dopaminerg tüskéken. A neurabin (PPP1R9A), amely főleg az idegsejtek nyúlványaiban található, és segít a PP1-nek az aktin-citoszkeletohoz kapcsolódni, valamint a Yotiao (AKAP9) állványfehérje, amely az NMDA-receptorokhoz horgonyozza a PP1-et és a PKA-t (Protein Kináz A), így teremtve meg a gyors foszforilációs/defoszforilációs egyensúlyt. A DARPP-32 (PPP1R1B) a striátumban a dopamin hatására foszforilálódik, és ilyenkor a PP1 inhibitorává válik. Az Inhibitor-1 (I-1) a DARPP-32-höz hasonlóan, de a teljes agyi területen expresszálódik [3]. A CPI-17, amely a PKC útvonalon keresztül gátolja a MP aktivitását, közvetve szabályozza a vezikula-felszabadulást. Egy másik lehetséges magyarázat a differenciált expresszióra az a tény, hogy a MYPT1 a PP1c-től függetlenül a MYPT1 „scaffold” állvány fehérjeként is funkcionál. Képes kölcsönhatásba lépni más jelátviteli molekulákkal (pl. RhoA, Rho A-aktivált kináz (ROCK), vagy bizonyos ioncsatornák), ahol nem feltétlenül a defoszforiláció a végcél, hanem a fehérjekonformáció stabilizálása vagy térbeli lokalizációja [4]. Erről azonban még nem áll rendelkezésre mélyreható irodalom.

A ROCK általi foszforiláció (SNAP-25 Thr138-on) gátolja a SNARE-komplex kialakulását vagy stabilitását. A MP általi defoszforiláció ezt a gátlást oldja fel. Ez nem tekinthető obligát lépésnek abban az értelemben, hogy a vezikula-fúzió e nélkül is végbemegy. Sokkal inkább egy komplex finomhangolási mechanizmusról van szó. A MP a vezikula-poolok közötti átjárást (pl. a tartalék poolból a gyorsan felszabadítható poolba) és a szinaptikus hatékonyságot állítja be. Ha a MP aktivitása kiesik, a szinapszis továbbra is működik, de a rövid távú plaszticitása és a transzmisszió kinetikája alapvetően megváltozik. Létezik egy igen direkt kapcsolat a Ca^{2+} -beáramlás és a foszforilációs állapot között: a Ca^{2+} szint emelkedése aktiválja a CaMKII-t (kalmodulin-függő protein kináz II), amely képes foszforilálni az MYPT1-et. Ez a foszforiláció gátolhatja a foszfataz aktivitását, így közvetett módon fenntartja a miozin foszforilált (aktív) állapotát a nagyfrekvenciás tüzelés során.



2. Szabályozott-e hepatokarcinóma (HepG2) sejtekben a MP és/vagy az MYPT1 sejtmagi transzportja/lokalizációja, vagy ezek állandó magi komponensek? Az 57. oldalon annak a kérdésnek a vizsgálatát veti fel a pályázó, hogy mi lehet a MP/PRMT5 sejtmagi jelátviteli rendszer upstream szabályozója, de ennek megválaszolása érdekében a nukleáris interaktomból kerestek jelölteket. Felmerül azonban a kérdés, hogy hogyan kapcsolódhat ez a rendszer a citoplazmás és/vagy akár sejten kívüli folyamatokhoz, és hogyan lehetne azonosítani az ott található felső szabályozó elemeket?

Válaszom részben egybevág a Dr. Enyedi Balázs által feltett kérdésre. A MP holoenzim PP1c katalitikus és MYPT1 szabályozó alegysége közül a szakirodalom alapján a lokalizációt elsősorban a MYPT1 határozza meg, mivel a katalitikus alegység önmagában nem rendelkezik specifikus organelum-célzó szekvenciákkal. Bár az alegységek külön is létezhetnek, a nukleáris transzport során a MYPT1 általában a hozzá kötött PP1c-t is transzportálja, így a sejtmagban mint funkcionális holoenzim jelenik meg [5]. A MYPT1 szekvenciájában két nukleáris lokalizációs szekvencia (NLS) található mind az N, mind a C-terminális régióban, a 27–33. és a 845–854. aminosavak között, ám az előbbi tűnik fontosabbnak. Érdekes, hogy mindkét NLS-t a C-terminális szélén egy foszforilációs hely, a T34 és a T855 határolja [6]. A MYPT1 nukleáris exportját nukleáris export szignálok (NES) vezérlik, a MYPT1 C-terminálisához közeli két leucin aminosav és környezete (a humán szekvenciában a 962. és 964.) feltételezhetően NES-t alkot [7]. Ryan és munkatársai leírták, hogy a MYPT1 exportja kromoszóma régió fenntartási 1 (CRM1, exportin-1)-függő folyamat. A Leptomycin B-vel (egy CRM1-gátlóval) végzett kísérletek során a MYPT1 felhalmozódik a sejtmagban, ami igazolja a folyamatos “shuttling”, ingázás folyamatát a két kompartment között [8].

A MP szubcelluláris lokalizációjának szabályozása két fő mechanizmuson keresztül valósul meg: a MYPT1 foszforilációjával, amely megváltoztathatja a transzportfehérjékkel való interakciót, illetve a NLS közeli foszforilációs helyekkel, amely az importinnal való kapcsolatot szabályozza, gyakran a citoplazmában tartva az enzimet, illetve a 14-3-3- fehérjék általi kölcsönhatásával, amely a foszforilációs helyekhez kötődve megakadályozza az importinokkal kialakított kapcsolatot és a magi transzlokációt [9].

A MP sejtmagi szabályozásának kérdését azt tette szükségessé, hogy eddigi irodalmi ismereteink szerint a MYPT1-et foszforiláló kinázok, így a ROCK és ILK, sejtmagi lokalizációját eddig nem mutatták ki, illetve a MYPT1-et defoszforiláló protein foszfatáz (PP2A) nem mutatott fehérje-fehérje kölcsönhatást a szabályozó alegységgel. Munkacsoportunk kísérletei során nem



stimulált „nyugalmi” sejtekben a MYPT1 a citoplazmatikus és sejtmagi lokalizációt is mutatott. Az okadánsav PP2A inhibitorral történő kezelés növelte a MYPT1 foszforilációs szintjét. A Thr696 és Thr853 gátló foszforilációs helyeken módosított MYPT1 eltérő domináns szubcelluláris lokalizációt mutatott hepG2 sejtekben. A T696 foszforilációja a plazmamembrán és citoskeletális régió, még a T853 foszforilációja a perinukleáris és a nukleáris elhelyezkedést mutatott [10]. Ezt a jelenséget Ryan és munkatársai is leírták, miszerint a Wnt3-jelátvitel aktiválja a ROCK-ot, amely foszforilálja a MYPT1-et a Thr853 oldalláncon, ami az MP transzlokációját okozza a sejtmagba, ahol komplexet képezhet az Nkx2.5 kardiomiogenezist szabályozó transzkripció faktorral. A MYPT1 az Nkx2.5 exportálását indukálja a sejtmagból a citoplazmába egy Crm1-függő útvonalon keresztül. Az Nkx2.5 transzlokációja látszólag a transzkripció aktivitásának gátlását eredményezi [8].

Jelenleg is bírálat alatt álló kéziratunkban tüdődaganatban is igazoltuk a kompartment-specifikus MYPT1 foszforilációs folyamatait. Az általunk leírt PPM1B foszfatáz overexpressziójának hatására a sejtmagi MYPT1 Thr853 gátlása csökken, ami által fokozódik a MP aktivitása, amely a protoonkogének gátlásához, a MYPT1 transzlokációjához vezet, valamint a citoskeletális régióban aktiválódik a MP, amely az aktomiozin komplex változását idézi elő, így a migráció, invázió és kolonizáció folyamatának gátlását indukálja.

Ezek alapján elmondható, hogy a MYPT1 foszforilációja feltehetően már a citoplazmában bekövetkezik, és a folyamat reverzibilitását a sejtmagban lévő PPM1B szabályozza. A citoszolikus MP szabályozása ennél sokkal jobban részletezett: számos kináz (ROCK, ILK, ZIPK) felelős a gátló foszforilációs helyek foszforilációjáért, és már leírták a PP2A enzim defoszforilációs hatását. Emellett a citoszolban kiemelt jelentősége van a MP aktivitását befolyásoló inhibitor fehérjéknek (pl. CPI17, KEPI, SMTNL1, is) is [11].

3. A bőrszövet homeosztázisával kapcsolatos kísérletsorban összefoglalásra kerültek a PP1 és az MYPT1 gének csendesítéséhez köthető génkifejeződésbeli változások. Az azonban nem világos számomra, hogy akkor itt ismét a sejtmagi foszfatáz funkciókhoz köthető az elsődleges hatás, vagy a génexpressziós változásokat indirekt változásnak tekinthetjük?

A bőrszövet homeosztázisával és a MP kapcsolatos kísérletek eredményei alapján mindkét mechanizmus egyidejűleg jelen van, kombinált a hatás, de a génexpressziós változások jelentős része direkt sejtmagi MP funkciókhoz köthető.

A sejtmagi MP direkt hatással a PRMT5/hisztin tengelyen keresztül szabályozza a



génexpressziót, azaz a bőrhómeosztázisban szerepet játszó géneket. Ezt bizonyítja az, hogy számos átfedést találtunk az siMYPT1 [12] és a PRMT5 által szabályozott gének listáján [13]. Így a Rap1 (Ras-proximal protein 1) expressziója jelentősen csökken siPRMT5 esetén, míg siMYPT1 hatására (a PRMT5 aktiválódása miatt) az expressziója megnő. Ez a gén kulcsfontosságú a sejt-sejt kapcsolatok és a migráció szabályozásában. Az ST7 és NM23 szintén direkt PRMT5 célpontok, amelyek a migrációs, inváziós hatású fehérjék, és az MP aktivitásának változása közvetlenül befolyásolja a szintjüket.

Azonban a MP által befolyásolt PRMT5-től független gének száma is jelentős, ami arra utal, hogy a MP PRMT5-től független hatással is szabályozza a génexpressziót. Így a másik lehetséges magyarázat egy indirekt hatás, amely feltehetően mechanotranszdukció által aktiválódik. Ha a bőrt vagy a sebszéleket feszültség éri, aktiválódnak a mechanoreceptorok (pl. integrinek). Ez aktiválja a RhoA GTP-ázt, ami bekapcsolja a ROCK enzimet. A ROCK közvetlenül foszforilálja a MYPT1-et, ezáltal gátolva a MP-t. Ez kiváltja a MLC (miozin könnyű lánc) foszforilációját, aminek eredményeként nő a sejt belső feszültsége és kontraktilitása [14]. A megnövekedett mechanikai feszültség aktiválja a feszültségérzékeny jelátviteli utakat (például a YAP/TAZ vagy MRTF-A transzkripciós koaktivátorokat), amelyek a sejtmagba vándorolva megváltoztatják a génkifejeződést [15]. Olyan gének (pl. CTGF, CYR61), amelyek a mechanikai feszültségre reagálnak, megváltozhatnak MP hatására, de nem feltétlenül a PRMT5-függő útvonalak hatására.

4. Az SMTNL1 fehérje a PR-B kofaktora, ami nem-terhes állapotban gátolja a PR-B aktivitását, míg terhes egerekben ez a gátlás megszűnik (a 31. ábra alapján). Mi ennek a változásnak a molekuláris mechanizmusa?

Az SMTNL1, PR és ER expressziójának szabályozása két lehetséges homeosztatisz visszacsatolási mechanizmuson keresztül történik. Az egyik alapján a PR szintézisét az ER-en keresztül ható ösztrogén szabályozza. A progeszteron (P4) az ER fehérje

koncentrációjának csökkentésével, a keringő ösztrogénszint csökkentésével és az ER hatásának molekuláris szintű antagonizálásával gátolja az ösztrogén indukcióját (A). Az ER-nek közvetlen hatása is lehet az SMTNL1 transzkripciójára, ezt a hipotézist az ER kötőhelyek jelenléte is alátámasztja az *smtnl1* promotor régiójában [16]. A B ábrán az SMTNL1 közvetlenül és specifikusan kötődik a PR-B-hez hormonfüggő módon, és elnyomja annak transzkripció





aktivitását. Az SMTNL1 PR-B szabályozásának valószínűsíthető módja a PKA-közvetített foszforiláció. Mindkét fehérjének több *in vivo* foszforilációs helye van, és ezek közül legalább az egyik, a Ser-301, potenciálisan befolyásolhatja az SMTNL1 bejutását a sejtmagba. Ezért az SMTNL1 foszforilációjával lehet aktiválni vagy gátolni a PR funkcióra gyakorolt hatásait.

5. Az 5.5.2 fejezetben leírt eredmények alapján az SMTNL1 citoplazmás kinázok és génexpressziós változások által is elősegíti az izomsejtek inzulinérzékenyítését. Kérdésem, hogy a génexpressziós változások itt is a PR-B receptoron keresztül valósulnak meg vagy az SMTNL1 más módon is képes a génkifejeződést szabályozni?

Az SMTNL1 génexpressziót szabályozó szerepe összetett, és a kutatások rávilágítanak arra, hogy bár a PR-B (progeszteron-receptor B) a legfontosabb partnere a terhesség alatti metabolikus adaptációban, az SMTNL1 nem kizárólag ezen keresztül képes befolyásolni a génkifejeződést. A PR-A progeszteron jelenlétében, de kisebb mértékben mutat affinitást az SMTNL1-hez. Emellett hormontól függetlenül az androgen receptorokhoz is mutat némi kötődést. Így feltehető, hogy bár minimális mértékben, de az SMTNL1 más útvonalakon és mechanizmusokon keresztül is képes az izomsejtek génexpresszióját és inzulinérzékenységét módosítani.

Az SMTNL1 másik fő funkciója a MP gátlása a MYPT1 szabályozó alegységgel kialakított kapcsolatával. A MP-nak azonban génexpresszió szabályozó hatása van. Így az NFAT és CREB, az izomrost-típus meghatározásában és a metabolikus gének (pl. GLUT4) kifejeződésében kiemelt jelentőségű fehérjék is szabályozódhatnak a MP/PRMT5/hisztin tengelyen keresztül. A legerősebb bizonyíték arra, hogy létezik PR-B-től független útvonal, az SMTNL1-KO hím egerek vizsgálata. A hímekben a progeszteronszint alacsony, a PR-B szerepe pedig minimális a vázizomban, ennek ellenére az SMTNL1-hiányos hím egerekben is megfigyeltek bár a vemhes nősténykehez képest eltérő- izotípus-eltolódást. Az inzulinérzékenyítő hatása tehát egy kombinált eredmény: részben a glükóz-transzporterek (GLUT4) és az inzulin-jelátviteli fehérjék (IRS1) expressziójának fenntartása révén, részben pedig a MP gátlásán keresztül, ami finomhangolhatja az inzulin-receptor utáni útvonalakat.

6. Ahogy az a 45. ábrán is össze van foglalva, az SMTNL1 fontos szerepet játszik a hipertireózisos vázizom anyagcseréjének szabályozásában, és a modell szerint itt elsődlegesen sejtmagi szerepről van szó. Ismert-e, hogy ez a feltételezett transzkripciós szabályozás milyen transzkripciós faktorok és/vagy kromatin szabályozó fehérjék közreműködésével valósul meg? Egy ehhez kapcsolódó általánosabb kérdés, hogy az SMTNL1 fehérje citoplazmás és sejtmagi



funkciói hogyan viszonyulnak egymáshoz? Helyes az az elképzelés, hogy a citoplazmában elsődlegesen az MP gátló faktorának tekinthetjük, míg foszforilált formában elsődleges egy sejtmagi transzkripciós kofaktorként működik? Léteznek olyan specifikus mutánsok vagy egyéb eszközök, amelyek segítségével különböző sejttypusokban szelektíven lehetne a citoplazmás és a sejtmagi funkciókat vizsgálni, tanulmányoztak már pl. NLS deléciót hordozó mutánsokat?

Az SMTNL1, mint transzkripciós kofaktor, elsősorban a progeszteron receptorokat és az androgen receptort szabályozhatja ebben az esetben [16]. T3 jelenlétében nem észleltünk fehérje-fehérje kölcsönhatást a pajzsmirigyhormon receptorok ($TR\alpha/\beta$) és az SMTNL1 között [17]; így kizártuk annak lehetőségét, hogy az SMTNL1 a TR koregulációs komplexének tagja lenne. Humán euthyreoid és hyperthyreoid mintákon kapott adatok azt mutatták, hogy az emelkedett aktív pajzsmirigyhormon (T3) szint drasztikusan csökkentette az SMTNL1 expresszióját. Ezen kívül az SMTNL1 expressziója fordítottan arányos volt a T3-mal a C2C12 differenciálódás során, de a T3 csak a differenciált miocitákban okozott szignifikáns SMTNL1 expresszió csökkenést, ami a differenciált vázizmokkal összefüggő mechanizmusra utal. A PKA aktiválása a $TR\alpha$ expressziójának jelentős csökkenését eredményezte, különösen az SMTNL1-et overexpresszáló sejtekben, ami arra utal, hogy a SMTNL1 PKA általi foszforilációja sejtmagi transzlokációt indukált, és az SMTNL1 ezáltal módosíthatta a $TR\alpha$ expresszióját [18]. Az egyik lehetséges magyarázat az SMTNL1 hipertireózisban lévő expressziós szint csökkenésére, hogy a T3 számos olyan protein kinázra képes nem-genomi aktiváló hatással lenni, amelyek foszforilálják és aktiválják a transzkripciós faktorokat, ami így végül transzkripciós szabályozást eredményez [19]. Emellett az SMTNL1 promóterét megvizsgálva a GR, AP-1, RXR, MyoD és ER transzkripciós faktorok kötőhelyeit azonosították, de a TR-ét nem [20]. Így a másik feltételezés, hogy TR indirekt módon szabályozza az SMTNL1 génexpresszióját. Irodalmi adatok alapján a TR az AP-1 komplexhez kötődve hormonfüggő módon szabályozza a génexpressziót, anélkül, hogy a DNS-hez kötődne. Ezt támogatja megfigyelésünk, miszerint a $TR\alpha$ expressziójának csökkentését a SMTNL1 túltermelése és a T3 kezelés is kiváltja, ami arra utal, hogy a $TR\beta$ az SMTNL1 lehetséges transzkripciós szabályozója. A másik lehetőség, hogy a MyoD kölcsönhatásba léphet az SMTNL1 expresszióját befolyásoló TR-kal egy kiterjedt „szabályozó rács” (regulatory lattice) formájában, ahol különböző útvonalak kommunikálnak és befolyásolják egymást [21].

A kérdésben említett feltételezés teljesen helytálló. A citoplazmában, defoszforilált



formában az SMTNL1 nagy affinitással kötődik a MP MYPT1 szabályozó alegységéhez. Ezzel gátolja a MP aktivitását, ami a miozin könnyűlánc (MLC20) magasabb foszforilációs szintjéhez és fokozott izomösszehúzódnáshoz/tónushoz vezet. Itt tehát az SMTNL1 egy kontraktilis modulátor. A modell szerint a PKA vagy a PKG általi foszforiláció (humán fehérjében a Ser301 maradékon) drasztikusan lecsökkenti az SMTNL1 affinitását a MYPT1-hez. A felszabadult SMTNL1 ezután a sejtmagba transzlokálódik, ahol transzkripciós kofaktorként (többnyire korepresszorként) lép fel, befolyásolva például a PR aktivitását. Munkacsoportunk létrehozta az SMTNL1 S301A mutáns amely eredményeink szerint PKA stimuláció hatására sem transzlokálódik a sejtmagba, ami bizonyítja ezen egyetlen szabályozóhely transzlokációra kifejtett hatását. Emiatt NLS mutánsokat eddig még nem vizsgáltuk. Feltételezzük, hogy a foszforiláció elősegíti az SMTNL1 nukleáris lokalizációját a NLS környezetére kifejtett hatásával.

Hivatkozások

- [1] B. Lontay, Z. Serfozo, P. Gergely, M. Ito, D.J. Hartshorne, F. Erdodi, Localization of myosin phosphatase target subunit 1 in rat brain and in primary cultures of neuronal cells, *J Comp Neurol*, 478 (2004) 72–87.
- [2] J.R. Bordelon, Y. Smith, A.C. Nairn, R.J. Colbran, P. Greengard, E.C. Muly, Differential localization of protein phosphatase-1alpha, beta and gamma1 isoforms in primate prefrontal cortex, *Cereb Cortex*, 15 (2005) 1928–1937.
- [3] P. Greengard, The neurobiology of slow synaptic transmission, *Science*, 294 (2001) 1024–1030.
- [4] M. Bollen, W. Peti, M.J. Ragusa, M. Beullens, The extended PP1 toolkit: designed to create specificity, *Trends Biochem Sci*, 35 (2010) 450–458.
- [5] M.E. Grassie, L.D. Moffat, M.P. Walsh, J.A. MacDonald, The myosin phosphatase targeting protein (MYPT) family: a regulated mechanism for achieving substrate specificity of the catalytic subunit of protein phosphatase type 1delta, *Arch Biochem Biophys*, 510 (2011) 147–159.
- [6] Y. Wu, A. Muranyi, F. Erdodi, D.J. Hartshorne, Localization of myosin phosphatase target subunit and its mutants, *J Muscle Res Cell Motil*, 26 (2005) 123–134.
- [7] T. la Cour, L. Kierner, A. Molgaard, R. Gupta, K. Skriver, S. Brunak, Analysis and prediction of leucine-rich nuclear export signals, *Protein Eng Des Sel*, 17 (2004) 527–536.
- [8] T. Ryan, M. Shelton, J.P. Lambert, B. Malecova, S. Boisvenue, M. Ruel, D. Figeys, P.L. Puri, I.S. Skerjanc, Myosin phosphatase modulates the cardiac cell fate by regulating the subcellular localization of Nkx2.5 in a Wnt/Rho-associated protein kinase-dependent pathway, *Circ Res*, 112 (2013) 257–266.
- [9] Y. Koga, M. Ikebe, A novel regulatory mechanism of myosin light chain phosphorylation via binding of 14-3-3 to myosin phosphatase, *Mol Biol Cell*, 19 (2008) 1062–1071.
- [10] B. Lontay, A. Kiss, P. Gergely, D.J. Hartshorne, F. Erdodi, Okadaic acid induces phosphorylation and translocation of myosin phosphatase target subunit 1 influencing myosin phosphorylation, stress fiber assembly and cell migration in HepG2 cells, *Cell Signal*, 17 (2005) 1265–1275.
- [11] A. Kiss, F. Erdodi, B. Lontay, Myosin phosphatase: Unexpected functions of a long-known enzyme, *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1866 (2019) 2–15.
- [12] D. Horvath, A. Sipos, E. Major, Z. Konya, R. Batori, D. Dedinszki, A. Szoll Si, I. Tamas, J. Ivan, A. Kiss, F. Erdodi, B. Lontay, Myosin phosphatase accelerates cutaneous wound healing by regulating migration and differentiation of epidermal keratinocytes via Akt signaling pathway in human and murine skin, *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1864 (2018) 3268–3280.



-
- [13] S. Kim, U. Gunesdogan, J.J. Zylitz, J.A. Hackett, D. Cougot, S. Bao, C. Lee, S. Dietmann, G.E. Allen, R. Sengupta, M.A. Surani, PRMT5 protects genomic integrity during global DNA demethylation in primordial germ cells and preimplantation embryos, *Mol Cell*, 56 (2014) 564–579.
- [14] K. Burridge, M. Chrzanowska-Wodnicka, Focal adhesions, contractility, and signaling, *Annu Rev Cell Dev Biol*, 12 (1996) 463–518.
- [15] S. Dupont, L. Morsut, M. Aragona, E. Enzo, S. Giulitti, M. Cordenonsi, F. Zanconato, J. Le Digabel, M. Forcato, S. Bicciato, N. Elvassore, S. Piccolo, Role of YAP/TAZ in mechanotransduction, *Nature*, 474 (2011) 179–183.
- [16] K. Bodoor, B. Lontay, R. Safi, D.H. Weitzel, D. Loiselle, Z. Wei, S. Lengyel, D.P. McDonnell, T.A. Haystead, Smoothelin-like 1 protein is a bifunctional regulator of the progesterone receptor during pregnancy, *J Biol Chem*, 286 (2011) 31839–31851.
- [17] E. Major, F. Gyory, D. Horvath, I. Keller, I. Tamas, K. Uray, P. Fulop, B. Lontay, Smoothelin-Like Protein 1 Regulates Development and Metabolic Transformation of Skeletal Muscle in Hyperthyroidism, *Front Endocrinol (Lausanne)*, 12 (2021) 751488.
- [18] B. Lontay, K. Bodoor, D.H. Weitzel, D. Loiselle, C. Fortner, S. Lengyel, D. Zheng, J. Deventer, R. Hickner, T.A. Haystead, Smoothelin-like 1 protein regulates myosin phosphatase-targeting subunit 1 expression during sexual development and pregnancy, *J Biol Chem*, 285 (2010) 29357–29366.
- [19] I. Irrcher, D.R. Walkinshaw, T.E. Sheehan, D.A. Hood, Thyroid hormone (T3) rapidly activates p38 and AMPK in skeletal muscle in vivo, *J Appl Physiol* (1985), 104 (2008) 178–185.
- [20] A. Ulke-Lemee, S.R. Turner, S.H. Mughal, M.A. Borman, R.J. Winkfein, J.A. MacDonald, Mapping and functional characterization of the murine smoothelin-like 1 promoter, *BMC Mol Biol*, 12 (2011) 10.
- [21] S.H. Lee, B.J. Kim, D.R. Park, U.H. Kim, Exercise induces muscle fiber type switching via transient receptor potential melastatin 2-dependent Ca(2+) signaling, *J Appl Physiol* (1985), 124 (2018) 364–373.