

УДК 615.277.3; 577.214.39

Роль белков семейства BAR в регуляции динамики клеточных мембран

Т. Б. Станишневa-Коновaловa¹, Н. И. Деркачевa², С. В. Полевовa¹, О. С. Соколовa^{1*}¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12²Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, кафедра биохимии, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

*E-mail: sokolova184@gmail.com

Поступила в редакцию 10.03.2016

Принята к печати 22.08.2016

РЕФЕРАТ Многие процессы жизнедеятельности клетки связаны с перестройкой биологических мембран. Семейство BAR-доменных белков играет ключевую роль в формировании и детекции локальных изгибов мембран и привлечении к мембранам других белков, в том числе регулирующих перестройки актинового цитоскелета. Основываясь на структурных и филогенетических свойствах, BAR-домены принято делить на несколько групп, по-разному воздействующих на мембраны и выполняющих разные функции в клетке. Однако в последнее время появляется все больше свидетельств функциональных различий даже в пределах одной группы этого семейства. В настоящем обзоре рассмотрены принципы взаимодействия различных групп BAR-доменов и их отдельных представителей с мембранами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА BAR-домены, динамика мембран, липидные мембраны.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ АС – амфипатическая спираль; ПН – поверхностное натяжение; $\Phi\text{I}(4,5)\Phi_2$ – фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат.

ВВЕДЕНИЕ

При движении клетки скоординированные процессы полимеризации актина и взаимодействие актиновых филаментов с клеточной мембраной толкают активный край клетки вперед и приводят к образованию филоподий. Эти процессы координируются актинсвязывающими белками. Нарушения в функционировании актинсвязывающих белков, приводящие к нарушениям подвижности клетки, являются отличительной особенностью необластических клеток. Белки семейства BAR служат связующим звеном между динамикой актина и мембранными перестройками у всех эукариот. Изначально BAR-домены были определены как консервативные участки белков животных BIN и амфифизина, а также дрожжевых белков Rvs161 и Rvs167 [1]. Помимо BAR-домена, белки этого семейства содержат другие домены, необходимые для связывания со специфическими белками и липидами, что определяет их функцию и расположение в клетке [2] (рис. 1). Предпочтительное связывание BAR-доменов с изогнутыми участками мембраны позволяет привлекать нужные белки к местам мембранных перестроек.

BAR-доменные белки могут воздействовать на полимеризацию актина разными способами. В некоторых случаях они активируют факторы нуклеации актина WASP (Wiskott-Aldrich Syndrome Protein) и WAVE (Wiskott-Aldrich Verprolin Protein) [3], другие BAR-доменные белки взаимодействуют с Rho GTP-азами [4]. Большинство BAR-доменов привлекают к мембране специфичные для конкретного клеточного процесса белки за счет SH3-доменов, которые сами способны взаимодействовать со множеством белков, содержащих богатые пролином последовательности [5, 6]. Это ставит вопрос о факторах, определяющих специфичность привлечения определенных белков. Существует гипотеза, согласно которой белки-партнеры узнают не отдельные SH3-домены, а специфическое расположение нескольких SH3-доменов [7] (см. ниже).

Помимо привлечения белков-партнеров, SH3-домены часто выполняют функцию регуляции активности BAR-доменов [8, 9]. Как правило, связывание SH3 с BAR-доменом переводит структуру в автоингибированное состояние, для снятия которого необходимо взаимодействие с белком-акти-

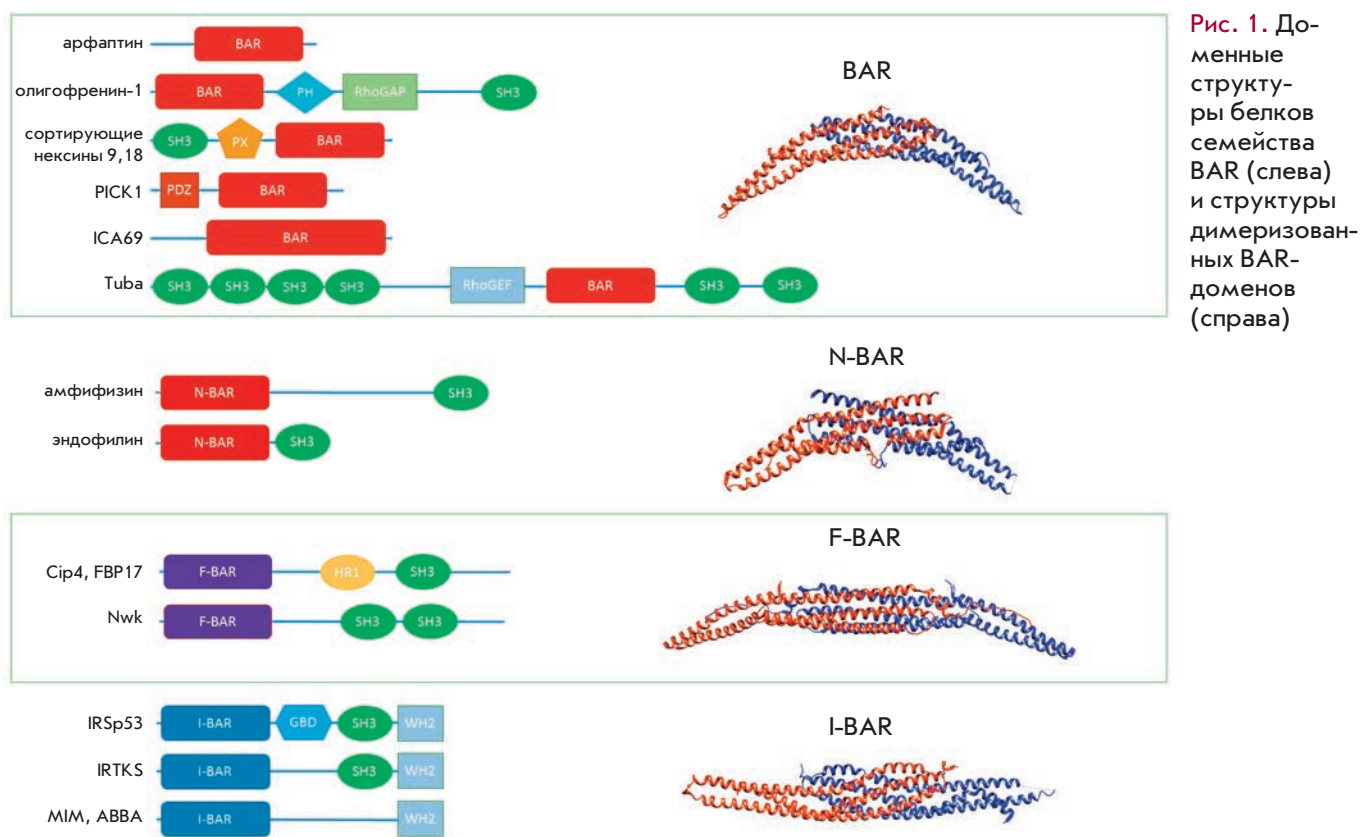


Рис. 1. Доменные структуры белков семейства BAR (слева) и структуры димеризованных BAR-доменов (справа)

ватором [9]. У F-BAR белка Nervous wreck (Nwk) связывание SH3-домена с F-BAR не блокирует его способность связываться с мембраной, а лишь увеличивает необходимое для связывания количество фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата (ФИ(4,5)Ф₂) [10].

Интересный пример регуляции активности BAR-домена показывает белок PICK, функции которого связаны с интернализацией и экспонированием на поверхность клетки АМРА-рецепторов [11]. PICK ингибируется другим BAR-доменным белком – ICA69 [12], причем на сегодняшний день не ясно, обусловлено это образованием гетеродимера из BAR-доменов ICA69 и PICK или совместной олигомеризацией их гомодимеров. Второй вариант кажется более вероятным, учитывая стабильность димеров BAR-доменных белков и потенциальное участие С-концевого участка ICA69 во взаимодействии.

По данным базы Uniprot семейство BAR включает в настоящее время более 220 белков [13], только для четверти из них получены кристаллические структуры [14]. Общее свойство всех BAR-доменов – формирование димеров с положительно заряженной поверхностью, которая связывается с отрицательно заряженными липидными мембранами [15,

16]. По структурным и филогенетическим свойствам BAR-домены делятся на несколько групп: классические BAR/N-BAR, F-BAR и I-BAR (рис. 1) [17].

КЛАССИЧЕСКИЕ BAR-ДОМЕНЫ И N-BAR-ДОМЕНЫ

Классический BAR-домен представляет собой димер, в котором каждый мономер состоит из трех изогнутых антипараллельно направленных альфа-спиралей [15]. Димеры классических BAR и N-BAR имеют серповидную форму и связываются с мембраной своей вогнутой поверхностью. Большинство белков, содержащих классические BAR-домены, присутствуют в нервных клетках млекопитающих, где участвуют в формировании синаптических контактов, и в процессах, связанных с передачей сигнала [18].

Одними из наиболее изученных BAR-доменных белков являются амфифизины, функции которых связаны с эндоцитозом в нейронах [19]. У млекопитающих имеется два гена, кодирующих амфифизины. Изоформа амфифизина 2, так же как амфифизин дрозофилы, экспрессируется не в нейронах, а в мышечных клетках, где участвует в формировании и стабилизации Т-трубочек [20, 21]. Мутации в амфифизине 2/BIN1 человека вызывают наследственное нейромышечное заболевание, называемое центронуклеарная, или миотубулярная миопатия [22].

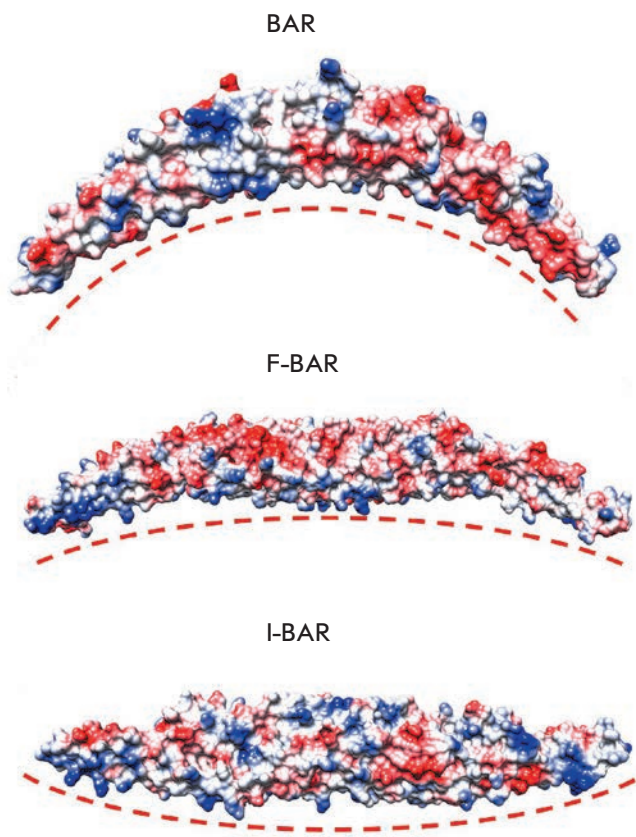


Рис. 2. Деформация мембраны BAR-доменами. Положительный и отрицательный электростатические потенциалы поверхности белка показаны синим и красным цветами соответственно, поверхность мембраны обозначена красной пунктирной линией

Единственный консервативный участок различных амфифизинов – N-концевой BAR-домен.

Кристаллическую структуру BAR-домена амфифизиона дрозофилы получили в 2004 году и предсказали, что подобные домены могут встречаться у многих групп белков [15]. На основании структурного сходства к семейству BAR-доменов была отнесена определенная ранее структура С-концевого домена арфатина [23] и расшифрованная позднее структура эндофилина [24]. На тот момент в ряде работ уже отмечали важную роль эндофилина в эндоцитозе и его взаимодействие с амфифизином и динамином [25, 26].

Согласно результатам рентгеноструктурного анализа, на концах BAR-домена, между α -спиралями 2 и 3 и на его вогнутой поверхности присутствуют кластеры положительно заряженных аминокислотных остатков (а.о.) (рис. 2), мутации которых снижали способность BAR-домена связываться с мембраной и модифицировать липосомы *in vitro*. Показано так-

же, что N-концевая последовательность амфифизиона длиной 26 а.о. имеет неупорядоченную структуру в растворе, но складывается в амфипатическую спираль (АС) при взаимодействии с липидами. Встраивание АС помогает BAR-домену формировать изгиб мембраны [27]. В дальнейшем АС обнаружили у многих (но не у всех) BAR-доменных белков.

I-BAR-ДОМЕНЫ

I-BAR-домен был впервые определен как гомологичный N-концевой домен белков IRSp53 и MIM млекопитающих и назван IM-доменом (IRSp53/MIM) [28]. Позднее, из-за структурного сходства с BAR-доменами, этот домен получил название I-BAR (Inverse BAR) [29]. I-BAR-доменные белки представлены как у высших, так и у низших эукариот, однако не найдены у дрожжей.

Подобно классическим BAR-доменам, I-BAR-домены состоят из трех α -спиралей и формируют димеры, многие из которых в опытах *in vitro* связываются с липосомами и модифицируют их кривизну [30–32]. Димер I-BAR имеет менее изогнутую форму, чем классический BAR (рис. 1). Кластеры положительно заряженных аминокислот, отвечающих за связывание с отрицательно заряженными липидами в мембране, располагаются у них не на вогнутой, а на выпуклой поверхности (рис. 2), и они вызывают изгиб мембраны в противоположную по сравнению с BAR сторону [28, 33].

Ген, кодирующий IRSp53, активно экспрессируется в различных клетках и тканях млекопитающих, особенно в нейронах. У мышей с нокаутом IRSp53 нарушены способность к обучению и память [34]. IRSp53 содержит CRIB-мотив, который связывается с GTP-азой Cdc42, и SH3-домен, взаимодействующий с WAVE. В комплексе с Cdc42 и белком Eps8 он может вызывать формирование филоподий [35], а в комплексе с WAVE – ламеллоподий [36]. Регуляция IRSp53 происходит за счет фосфорилирования двух остатков треонина, что приводит к связыванию с ним белка 14-3-3 и последующей инактивации [37]. IRTKS, ближайший гомолог IRSp53, в меньших количествах присутствует в мозге, но найден в мочевом пузыре, печени, семенниках, сердце и легких. В отличие от IRSp53 он не связывается с Cdc42, а его экспрессия в клетках вызывает образование кластеров коротких актиновых филаментов, а не филоподии, однако конкретные биологические функции IRTKS неизвестны [38]. MIM (Missing-In-Metastasis) получил свое название благодаря тому, что его экспрессия была понижена в некоторых метастазирующих линиях клеток [39], однако более поздние исследования показали, что в других метастазирующих линиях его экспрессия может быть, наоборот, повышена [40].

В процессе развития организма MIM активно экспрессируется в сердце, скелетных мышцах и центральной нервной системе. Сверхэкспрессия MIM в клеточных линиях млекопитающих приводит к исчезновению стрессовых фибрилл актина и появлению множества небольших выступов на поверхности клеток [41]. Активность MIM, как и IRSp53, регулируется фосфорилированием остатка в центральной части белка (вне I-BAR-домена) [42]. Получены данные об участии MIM в образовании цилий [43], однако точная его роль в развитии и физиологии животных не ясна. Белок AVBA, ближайший гомолог MIM, экспрессируется в глиальных клетках центральной нервной системы мышей, но отсутствует в нейронах. В культуре глиальных клеток C6-R AVBA локализуется в области кортикального актина, а его нокдаун приводит к дефектам в формировании ламеллоподий [44].

В 2011 году была расшифрована атомная структура I-BAR-домена белка Pinkbar (Planar Intestinal and Kidney-specific BAR), которая обладает практически нулевой кривизной [45]. Этот белок экспрессируется в эпителиальных клетках кишечника и почки и участвует в структуризации мембраны в зоне межклеточных контактов. I-BAR-домен белка Pinkbar, в отличие от других известных, способен формировать уплощенные участки мембраны и собираться в стабильные плоские олигомеры, причем как на липидной мембране, так и в растворе [29, 45]. Следствием олигомеризации доменов, помимо деформации мембраны, является кластеризация заряженных липидов $\text{FI}(4,5)\text{P}_2$ в мембране. По сравнению с классическими BAR-доменами I-BAR-домены обладают более высоким электростатическим потенциалом и способны формировать кластеры $\text{FI}(4,5)\text{P}_2$ на микроскопических масштабах [33].

F-BAR-ДОМЕНЫ

Еще одна широкая группа BAR-доменных белков имеет домен F-BAR (Fes/CIP4 homology-BAR). F-BAR-белки найдены у всех эукариот, кроме растений, они считаются важнейшими регуляторами изгиба клеточных мембран [46]. Большая часть известных F-BAR-доменных белков вовлечена в клатрин-зависимый или кавеолин-зависимый эндоцитоз. Многие также участвуют в образовании филоподий и ламеллоподий, но если филоподии необходимы для формирования аксонов [47], то ламеллоподии, напротив, ингибируют этот процесс [48]. Обе эти структуры могут обеспечивать миграцию нормальных клеток и участвовать в распространении метастазирующих [49]. Еще один важный процесс, нарушение которого приводит к развитию опухолей, – клеточное деление, также происходящее с участием F-BAR-доменных

белков. К заболеваниям, связанным с изменением уровня экспрессии или мутациями в генах, кодирующих белки этой группы, относятся нарушения развития, неврологические и аутовоспалительные заболевания, инвазивные опухоли, гипертрофия сердца, нарушения углеводного обмена и дисфункция почек, что делает F-BAR-доменные белки потенциальной терапевтической мишенью [50].

Впервые F-BAR-домен обнаружили в белке CIP4 (CDC42-Interacting Protein 4) [51]. Консервативный N-концевой участок (60 аминокислотных остатков) белков CIP4 и FES был назван FCH (FES/CIP4 Homology). Он расположен рядом с доменом, похожим по структуре на BAR-домен, и вместе с ним образует функциональную единицу – F-BAR. Анализ кристаллических структур F-BAR-доменов белков млекопитающих FBP17 и CIP4 показал, что F-BAR-домены имеют менее изогнутую и более удлиненную форму, чем классические BAR-домены [16] (рис. 1). Они состоят из пяти α -спиралей: короткой N-концевой, трех длинных и короткой C-концевой, за которой следует небольшая последовательность, ответственная за гомодимеризацию. Поверхности, которыми мономеры взаимодействуют друг с другом, содержат в основном гидрофобные остатки и несколько заряженных (рис. 2). Мутации консервативных положительно заряженных аминокислотных остатков на вогнутой стороне F-BAR-димеров приводили к снижению способности белков связываться с мембраной и модифицировать липосомы *in vitro* [16, 52].

Исследования последних лет указывают на избирательность связывания фосфолипидов некоторыми F-BAR-доменами [53, 54]. Так, у дрожжевого белка Rgd1p, активирующего GTP-азы Rho3 и Rho4 [55], обнаружен сайт связывания фосфоинозитидов, отсутствующий у других F-BAR-доменных белков дрожжей – Bzz1p и Hof1p [56]. Опыты *in vitro* показали предпочтительное связывание Rgd1p с липосомами, содержащими $\text{FI}(4,5)\text{P}_2$. Получение кристаллографической структуры Rgd1p в комплексе с мио-инозитол-1,2,3,4,5,6-гексакаисфосфатом (ИнзФ6), выступающим в роли аналога фосфоинозитидной липидной головки, позволило определить аминокислотные остатки, составляющие сайт связывания фосфоинозитидов.

Белки CIP4, FBP17 и FCHo2 также обладают специфичностью к фосфоинозитидам и имеют соответствующий сайт связывания [16, 52, 57]. Такой же сайт обнаружен у человеческого белка Gmp1r [58], который активирует GTP-азу RhoA и играет важную роль в перестройке кортикального актина в раннем митозе [59], а также в миграции нейронов [60]. И в том, и в другом процессе фосфоинозитиды явля-

ются важными регуляторами. Таким образом, специфичность связывания некоторых F-VAR-доменов с липидами позволяет привлекать F-VAR-доменные белки к определенным участкам мембраны. Кроме этого, связывание F-VAR-доменов ограничивает диффузию липидов, а следовательно, и трансмембранных белков, что может иметь важное значение для пространственной организации белков в конкретном клеточном процессе [54, 61].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ VAR-ДОМЕННЫХ БЕЛКОВ С МЕМБРАНОЙ

Основные функции VAR-доменов заключаются в **формировании** мембранного изгиба, его **распространении** и **стабилизации** и/или **распознавании** с последующим привлечением цитозольных белковых факторов к определенному месту клетки [17]. При этом возникновение изгиба и его распространение являются связанными процессами: локальные деформации мембраны, обусловленные одним димером, облегчают связывание других димеров.

Начальные этапы **формирования** мембранного изгиба происходят за счет электростатического связывания VAR-домена с мембраной и в некоторых случаях встраивания в мембрану N-концевой АС [62]. В основе связывания лежит взаимодействие положительно заряженных аминокислот с отрицательно заряженными липидами, причем некоторые VAR-домены предпочтительно связываются с фосфоинозитидами [56]. Встраивание АС в один монослой способствует образованию изгиба из-за возникающей асимметрии в структуре бислоя [63]. Показано также, что АС некоторых VAR-белков играют ключевую роль во фрагментировании небольших липосом [64]. Однако экспериментальные данные о связывании с мембранами VAR-доменов, не имеющих АС [65, 66], не позволяют однозначно ответить на вопрос о роли АС в генерации мембранного изгиба.

Для **распространения** изгиба необходимо взаимодействие многих VAR-доменов. Структуру, которую они образуют на поверхности мембраны, называют скаффолдом. Считается, что формирование скаффолда присуще всем VAR-доменным белкам, и его структура во многом определяет результат воздействия на мембрану. В свою очередь, структура скаффолда зависит от концентрации белка и натяжения мембраны. Методом крупно-зернистой молекулярной динамики показано, что N-VAR-домены при их низкой концентрации собираются на плоских мембранах и липосомах в нитевидные структуры и сетки, а при достижении поверхностной плотности 20% начинают формировать мембранный выступ [67]. N-VAR-белок эндофилин, функции которого связаны с эндоцитозом, способен индуцировать формиро-

вание трубок на гигантской липосоме при плотности около 5% и малом поверхностном натяжении (ПН). Для формирования трубок при большом ПН требуется большая плотность белков, а при ПН выше 0.25 мН/м формирование трубок полностью ингибируется. Влияние ПН на сборку скаффолда обусловлено тем, что связывание димеров концевыми участками опосредуется локальными мембранными деформациями, которым препятствует высокое значение ПН. Это говорит о том, что уменьшение ПН может запустить механизм быстрой активации эндоцитоза [68].

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ VAR-ДОМЕНОВ К ИЗГИБУ МЕМБРАНЫ

Изучение интенсивности флуоресценции белков на мембранных трубках, образованных гигантскими липосомами, показало, что VAR-домены могут работать как детекторы мембранного изгиба: плотность расположения VAR-доменов, связанных с мембранными трубками, в десятки или сотни раз выше, чем на плоской мембране. Предпочтительное связывание с мембранными трубками показано для всех протестированных VAR-доменных белков: амфифизина [69], эндофилина [70], BIN1 [71], синдапина [65] и IRSp53 [66]. Чтобы объяснить, почему похожие по структуре VAR-домены воздействуют на мембраны по-разному, необходимо рассмотреть способы организации множества VAR-доменов на мембране.

Так как рентгеноструктурный анализ не может дать представления о взаимодействии белков с полноразмерной мембраной, реконструкции олигомеров VAR-доменов, связанных с мембранными трубками, получены методом криоэлектронной микроскопии [7, 72, 73] (рис. 3).

Изучение организации F-VAR-доменов эндофилина на мембранной трубке показало, что они располагаются под углом 10° [7] (рис. 3А). Большие участки свободной мембраны между соседними тяжами (около 50 Å) могут быть обусловлены необходимостью обеспечить доступ GTP-азам, с которыми эндофилин взаимодействует в процессе эндоцитоза [74]. SH3-домены полноразмерного эндофилина при его взаимодействии с мембранной трубкой также располагались на поверхности в виде димеров. Это подтверждено опытами с поперечными сшивками цистеинов, экспериментально введенных в SH3-домены [75]. Предположили, что такая пространственная организация может узнаваться GTP-азой динамином, имеющей две расположенные рядом богатые пролином последовательности [75].

Еще одной олигомерной структурой, изученной с помощью криоэлектронной микроскопии и спиральной реконструкции, стала структура VAR-доменов изоформы амфифизина 2, вовлеченного в организа-

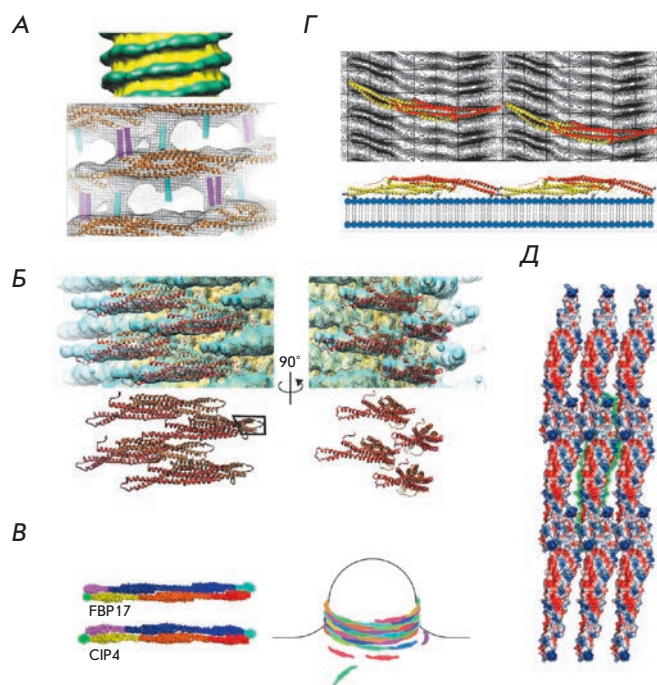


Рис. 3. Олигомеризация BAR-доменов на мембранах. А – построенная по изображениям криоэлектронной микроскопии модель мембранной трубочки диаметром 28 нм, вокруг которой собраны олигомеры эндофилина (сверху). Показано предполагаемое расположение BAR-домена (оранжевый) и дополнительных спиралей (голубой и фиолетовый) (снизу) [7]. Б – олигомеры, образованные BAR-доменами амфифизицина 2 [72]. В – схема олигомеризации BAR-доменов на мембране и формирования мембранных трубочек [16]. Г – взаимодействие между димеризованными BAR-доменами CIP4 [73]. Д – взаимодействие между димеризованными I-BAR-доменами Pinkbar [45]

цию Т-трубочек [72] (рис. 3Б). BAR-домены амфифизицина упакованы значительно плотнее, чем в структуре эндофилина, и таким образом, что один конец BAR-домена направлен в мембрану, а другой от нее. В отличие от эндофилина, они стабильно соединены друг с другом АС, которые, как предполагается, участвуют в инициации изгиба. Как следствие, трубочки, формируемые амфифизином, намного более жесткие. Это согласуется с биологическими функциями белков: амфифизицин формирует стабильные Т-трубочки, а эндофилин динамичные структуры, быстро образующиеся и разбирающиеся в процессе эндоцитоза [76].

С помощью рентгеновской кристаллографии удалось не только получить структуры отдельных F-BAR-доменов, но и предложить схему их взаимодействия с мембранами. В кристаллах F-BAR-

домены формируют плоские скаффолды, в которых BAR-домены расположены в боковой ориентации. Между собой BAR-домены взаимодействуют концевыми и латеральными участками. При взаимодействии с мембраной BAR-домены поворачиваются так, что изогнутая сторона, несущая положительно заряженные аминокислотные остатки, оказывается повернутой к мембране, плоский скаффолд преобразуется в кольцевой, а затем в спиральный, закручивающийся вокруг формирующейся трубки [16] (рис. 3В). Это предположение подтверждено данными криоэлектронной микроскопии [73] и молекулярного моделирования [77].

Изолированные I-BAR-домены могут активно формировать мембранный изгиб [33], но поскольку у полноразмерных I-BAR-белков эта способность менее выражена [41] ввиду аутоингибирования, они могут связываться с уже изогнутой мембраной. Функции восприятия и генерации изгиба мембраны не являются взаимоисключающими, поэтому можно предположить, что поведение белка зависит от его концентрации: при низкой концентрации они распознают существующий изгиб мембраны и привлекают к ней другие белки, а при высоких могут собираться в олигомеры (рис. 3Г) и активно участвовать в распространении изгиба [78]. С другой стороны, I-BAR-домены белка Pinkbar формируют не изгибы, а уплотненные мембранные участки. В соответствии с этим их олигомеры имеют плоскую форму, хотя в них присутствуют характерные для BAR-доменов концевые взаимодействия (рис. 3Д).

СТАБИЛИЗАЦИЯ ИЗГИБА МЕМБРАНЫ

Важность N-концевых АС для стабилизации взаимодействия с липидами установлена с помощью различных методов [15, 79]. В опытах *in vitro* отсутствие АС приводило к неспособности эндофилина модифицировать липосомы и образовывать трубки. Это показано также методом молекулярной динамики [7]. В более позднем исследовании методом электронного парамагнитного резонанса было показано, что АС эндофилина проникают в липидный бислой на 8–11 Å ниже уровня фосфатных групп и не находятся в прямом контакте друг с другом [80]. Предполагали, что важность АС для олигомеризации белка может быть связана с совместной координацией липидов. Встраивание АС в верхний липидный монослой приводит к образованию положительного мембранного изгиба из-за возникающей асимметрии в структуре бислоя.

Структура эндофилинов, установленная с помощью криоэлектронной микроскопии, указывала на то, что вставки соседних (параллельно длинной оси трубки) димеров не взаимодействуют друг

с другом и направлены к мембране. Это отличало их от расположения в кристаллической структуре и в связанном с липосомами состоянии. Различие впоследствии объяснили двумя конформационными состояниями: при высоких концентрациях белка, достаточных для формирования олигомера, N-BAR-домен оказывается ближе к мембране, что способствует более глубокому встраиванию АС [80] и препятствует спонтанному мембранному изгибу и стабилизирует мембранную трубку. Переключение между конформациями эндофилина может быть связано с фосфорилированием Ser75: появление негативного заряда мешает встраиванию АС в мембрану и стабилизации трубочек. Известно, что мутации LRRK2-киназы, связанные с болезнью Паркинсона, приводят к повышению фосфорилирования Ser75 и нарушениям эндоцитоза в синапсах [81].

Помимо привлечения белков-партнеров, SH3-домен эндофилина регулирует активность N-BAR-домена. Методом молекулярной динамики показано, что в растворе SH3-домен связывается с N-концевой АС за счет гидрофобных взаимодействий и формирования солевых мостиков между заряженными остатками [8]. Отрицательный электростатический потенциал при этом концентрируется на SH3-домене, а положительный на АС, поэтому когда белок подходит к мембране, АС поворачивается к ней, а SH3-домен отворачивается от нее. С одной стороны, в такой автоингибированной форме SH3-домен не взаимодействует с другими белками в растворе, а с другой, белок «ищет» в мембране место, подходящее по электростатическому потенциалу и имеющее дефекты в упаковке липидов, куда может произойти встраивание АС.

В последние годы появляются свидетельства того, что активность по формированию мембранных трубок или инвагинаций мембраны характерна не для всех без исключения BAR-доменов. Дрожжевой белок Cdc15p, вовлеченный в цитокинез, олигомеризуется в филаменты и не вызывает модификацию мембраны [82]. Олигомеризация Cdc15p необходима для формирования контрактильного кольца, однако в этом случае белок не вызывает изменение формы мембраны, а лишь привлекает к ней другие белки. Отсутствие способности формировать трубки также показано для шести F-BAR-доменов млекопитающих. Возможно, общая функция F-BAR-доменных белков состоит в привлечении и пространственной организации около мембраны других белков, и лишь в некоторых случаях они непосредственно изменяют форму мембраны [83]. Один из таких белков – F-BAR-доменный белок Nervous wreck (Nwk), гомологи которого присутствуют у многих организмов, от насекомых до высших позвоночных.

Два гомолога этого белка вовлечены в мембранные перестройки в стереоцилиях и нейронах мозжечка млекопитающих [84, 85].

НЕТРАДИЦИОННАЯ ОРИЕНТАЦИЯ. F-BAR-ДОМЕННЫЙ БЕЛОК NERVOUS WRECK

Рост нейронов и образование новых связей – процессы, лежащие в основе обучения и памяти, – контролируются факторами роста. Рецепторы, связавшиеся с факторами роста, убираются внутрь клетки путем эндоцитоза и направляются в специфические клеточные компартменты, где могут подвергаться модификации, деградации или взаимодействовать с другими белками [86]. Определение механизмов, которые контролируют скорость и направление потока эндосом с рецепторами, имеет большое значение для понимания процессов передачи сигнала. Нервно-мышечный синапс *Drosophila melanogaster* служит удобной моделью для изучения регуляции синаптического роста, поскольку за 4 дня площадь мышцы увеличивается более чем в 100 раз, что сопровождается значительным увеличением количества контактов с нейронами. Регуляция процесса роста нейронов включает как ретроградные сигналы от мышцы, так и антероградные сигналы от нейрона к мышце [87]. Известно, что мутации белков-регуляторов эндоцитоза приводят к избыточному количеству ответвлений аксона, поскольку препятствуют затуханию сигнала от рецепторов фактора роста [88–90].

F-BAR-белок Nervous wreck (Nwk) имеет ограниченную гомологию с другими F-BAR-белками. Исследования *in vitro* показали, что, в отличие от других F-BAR-белков, Nwk вызывает образование клеточных выступов, а не инвагинаций (рис. 4А) [91].

Для изучения взаимодействия F-BAR-домена Nwk с мембраной была построена его модель по гомологии с известной кристаллической структурой гомологичного F-BAR-домена FCHO2, имеющая специфическую S-образную форму [92] (рис. 4Б). Мы использовали электронную микроскопию для изучения способов организации F-BAR-доменов белков Ctp4 и Nwk на липидах и обнаружили, что F-BAR-домены Ctp4, как и ожидалось, собирались в линейные филаменты, а F-BAR-домены Nwk образуют V-образные, N-образные и зигзагообразные структуры более высокого порядка [92]. Важно, что в отсутствие липидов такие структуры не наблюдались. На основании полученных результатов предложен механизм взаимодействия Nwk с мембранами. Зигзагообразные структуры формируют на мембране «гребешок», геометрия которого зависит от угла между димерами и частоты встречаемости димеров, обращенных вогнутой стороной к мембране. В клетках этот гребешок может образовывать кольцо,

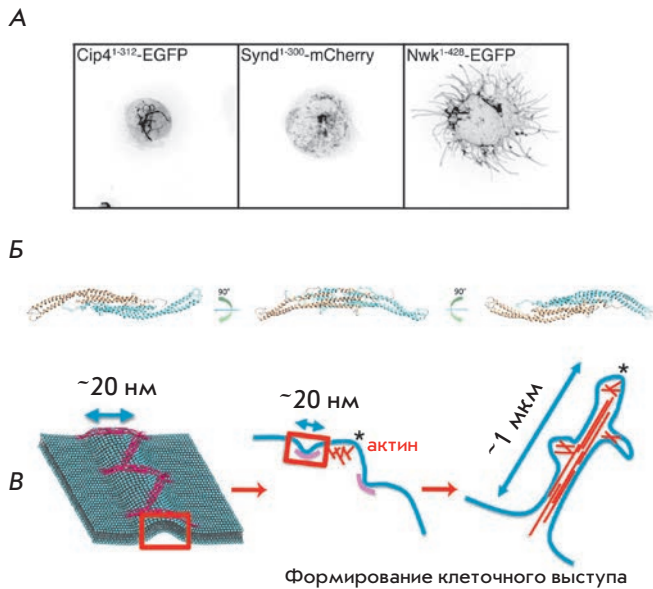


Рис. 4. Нетрадиционная активность F-BAR-домена Nwk [92]. А – формирование проникающих внутрь клетки трубочек при сверхэкспрессии типичных F-BAR-доменов и формирование клеточных выступов при сверхэкспрессии F-BAR-домена Nwk. Б – модель димеризованного F-BAR-домена Nwk (каждый мономер покрашен в свой цвет). В – схема формирования клеточных выступов при олигомеризации F-BAR-доменов Nwk и полимеризации актина

маркирующее участок мембраны, который далее преобразуется в клеточный выступ с помощью микротрубочек и актиновых филаментов (рис. 4B) [92].

Важную роль при этом играют концевые участки димера, ответственные за олигомеризацию, и электростатические взаимодействия между мембраной и вогнутой стороной F-BAR [92]. Формирование выступов также требует полимеризации актиновых филаментов, однако уже сформированные выступы не реагируют на обработку ингибитором полимеризации актина латрункулином В. Это указывает на то, что актин необходим только для их формирования [93]. Интересно, что возникшие выступы отличаются по структуре от филоподий, поскольку кроме актиновых филаментов содержат микротрубочки. Обработка нокадазолом, деполимеризатором микротрубочек, также не приводит к разрушению выступов.

Очевидно, что функционирование Nwk в нейронах обеспечивается не только его F-BAR-доменом, но и двумя SH3-доменами, каждый из которых связывается с определенными белками. В рециркулирующих эндосомах Nwk взаимодействует с белком из группы сортирующих нексинов SNX16, который,

в свою очередь, связан с пресинаптическим рецептором роста Tkv [94]. Взаимодействие Nwk с SNX16 приводит к понижению сигнала от Tkv и необходимо для возвращения рецептора на мембрану. Кроме того, Nwk связывает белки-регуляторы эндоцитоза Dap160, динамин и Wsp. Опыты с мутантными SH3а- и SH3b-доменами показали, что SH3а связывает динамин и Wsp, а SH3b отвечает за связывание с Dap160 [95]. Wsp активирует Arp2/3-комплекс, который запускает полимеризацию актина, необходимую для осуществления эндоцитоза [96]. Однако Nwk активирует Wsp значительно слабее, чем SH3-доменные белки млекопитающих, например, Nck активируют WASP [97]. Усиление эффекта достигается за счет совместного действия Nwk с другим активатором Wsp, GTP-азой Cdc42. Таким образом, посредством SH3-доменов Nwk взаимодействует с эндоцитозным аппаратом и вместе с Cdc42 активирует Wsp/Arp2-3-зависимую полимеризацию актина для регуляции синаптического роста.

Другая важная функция SH3-доменов Nwk – регуляция активности F-BAR. Показано, что SH3b-домен связывается с F-BAR, однако это не приводит к потере способности последнего связываться с мембраной, а лишь повышает количество отрицательно заряженных липидов, необходимое для связывания [10]. При этом как сам F-BAR-домен, так и полноразмерный белок модифицировали гигантские липосомы, однако слишком большой негативный заряд препятствовал деформации мембраны [10]. Одним из возможных объяснений может служить то, что при меньшей концентрации $\Phi\text{I}(4,5)\Phi_2$ большая часть F-BAR-доменов оказывается связанной с мембраной вогнутой стороной, что способствует деформации. С другой стороны, не исключено, что причиной является изменение свойств самой мембраны. Увеличение концентрации $\Phi\text{I}(4,5)\Phi_2$ в мембране приводит к возрастанию упорядоченности липидов, которое характеризуется выпрямлением углеводородных хвостов, возрастанием толщины бислоя, понижением коэффициента латеральной диффузии и т.д. [98, 99]. Образование таких липидных микродоменов может препятствовать деформации мембраны или динамичному перемещению белков, необходимому для формирования олигомеров [100]. Состав мембраны сходным образом способен регулировать и другие BAR-доменные белки: повышенное содержание $\Phi\text{I}(4,5)\Phi_2$ подавляет деформирующую мембрану активность F-BAR-домена FBP17 в опытах *in vivo* [101]. Ранее считалось, что связывание SH3-доменов с F-BAR приводит к полному автоингибированию, которое снимается либо связыванием с другими белками [102], либо повышением негативного заряда в мембране [103]. Пример Nwk, однако, ука-

зывает на более сложный механизм, который требует дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получение кристаллических структур VAR-доменов позволило описать механизмы изменения формы мембран на молекулярном уровне, а с помощью исследований *in vitro* и метода электронной микроскопии удалось объяснить, каким образом схемы олигомеризации VAR-доменов приводят к формированию различных мембранных структур. Показано как активность некоторых белков семейства VAR может регулироваться внутри- и межбелковыми взаимодействиями, а также за счет чего может достигать-

ся специфичность привлечения белков-партнеров. Однако, несмотря на значительное продвижение в понимании роли VAR-доменных белков в жизнедеятельности клетки, многие проблемы остаются нерешенными. Учитывая, что изменения уровня экспрессии и мутации в генах, кодирующих VAR-доменные белки, связаны со множеством серьезных заболеваний, исследования в этой области представляют собой интерес не только для биологии, но и для медицины. ●

*Работа поддержана грантом РФФ
(№ 14-14-00234).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sakamuro D., Elliott K.J., Wechsler-Reya R., Prendergast G.C. // *Nat. Genet.* 1996. V. 14. № 1. P. 69–77.
- Qualmann B., Koch D., Kessels M.M. // *EMBO J.* 2011. V. 30. P. 3501–3515.
- Padrick S.B., Cheng H.C., Ismail A.M., Panchal S.C., Doolittle L.K., Kim S., Skehan B.M., Umetani J., Brautigam C.A., Leong J.M., et al. // *Mol. Cell.* 2008. V. 32. № 3. P. 426–438.
- Itoh T., De Camilli P. // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Biol. Lipids.* 2006. V. 1761. № 8. P. 897–912.
- Ferguson S.M., Brasnjo G., Hayashi M., Wölfel M., Collesi C., Giovedi S., Raimondi A., Gong L., Ariel P., Paradise S., et al. // *Science.* 2007. V. 316. № 5824. P. 570–574.
- Solomaha E., Szeto F.L., Yousef M.A., Palfrey H.C. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 24. P. 23147–23156.
- Mim C., Cui H., Gawronski-Salerno J.A., Frost A., Lyman E., Voth G.A., Unger V.M. // *Cell.* 2012. V. 149. № 1. P. 137–145.
- Vázquez F.X., Unger V.M., Voth G.A. // *Biophys. J.* 2013. V. 104. № 2. P. 396–403.
- Rao Y., Ma Q., Vahedi-Faridi A., Sundborger A., Pechstein A., Puchkov D., Luo L., Shupliakov O., Saenger W., Haucke V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 18. P. 8213–8218.
- Kelley C.F., Messelaar E.M., Eskin T.L., Sokolova O.S., Nicastro D., Rodal A.A., Kelley C.F., Messelaar E.M., Eskin T.L., Wang S., et al. // *Cell Reports.* 2015. V. 13. № 11. P. 1–13.
- Rocca D.L., Martin S., Jenkins E.L., Hanley J.G. // *Nat. Cell Biol.* 2008. V. 10. № 3. P. 259–271.
- Cao M., Xu J., Shen C., Kam C., Haganir R.L., Xia J. // *J. Neurosci.* 2007. V. 27. № 47. P. 12945–12956.
- The UniProt Consortium. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. Database issue. P. D43–D47.
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. // *Nucl. Acids Res.* 2000. V. 28. № 1. P. 235–242.
- Peter B.J., Kent H.M., Mills I.G., Vallis Y., Butler P.J.G., Evans P.R., McMahon H.T. // *Science.* 2004. V. 303. № 5657. P. 495–499.
- Shimada A., Niwa H., Tsujita K., Suetsugu S., Nitta K., Hanawa-Suetsugu K., Akasaka R., Nishino Y., Toyama M., Chen L., et al. // *Cell.* 2007. V. 129. № 4. P. 761–772.
- Frost A., Unger V.M., De Camilli P. // *Cell.* 2009. V. 137. № 2. P. 191–196.
- Kessels M.M., Qualmann B. // *J. Cell Sci.* 2015. P. 1–9.
- David C., McPherson P.S., Mundigl O., de Camilli P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 1. P. 331–335.
- Lee E., Marcucci M., Daniell L., Pypaert M., Weisz O.A., Ochoa G.-C., Farsad K., Wenk M.R., De Camilli P. // *Science.* 2002. V. 297. № 5584. P. 1193–1196.
- Razaq A., Robinson I.M., McMahon H.T., Skepper J.N., Su Y., Zehof A.C., Jackson A.P., Gay N.J., Kane C.J.O. // *Genes Dev.* 2001. V. 15. P. 2967–2979.
- Nicot A.S., Toussaint A., Tosch V., Kretz C., Wallgren-Petersson C., Iwarsson E., Kingston H., Garnier J.M., Biancalana V., Oldfors A., Mandel J.L., Laporte J. // *Nat. Genet.* 2007. V. 39(9). P. 1134–1139.
- Tarricone C., Xiao B., Justin N., Walker P.A., Rittinger K., Gambin S.J., Smerdon S.J. // *Nature.* 2001. V. 411. № 6834. P. 215–219.
- Weissenhorn W. // *J. Mol. Biol.* 2005. V. 351. № 3. P. 653–661.
- Ringstad N., Gad H., Löw P., Di Paolo G., Brodin L., Shupliakov O., De Camilli P. // *Neuron.* 1999. V. 24. № 1. P. 143–154.
- Guichet A., Wucherpennig T., Dudu V., Etter S., Wilsch-Bräuniger M., Hellwig A., González-Gaitán M., Huttner W.B., Schmidt A.A. // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 7. P. 1661–1672.
- Gallop J.L., Jao C.C., Kent H.M., Butler P.J.G., Evans P.R., Langen R., McMahon H.T. // *EMBO J.* 2006. V. 25. № 12. P. 2898–2910.
- Yamagishi A., Masuda M., Ohki T., Onishi H., Mochizuki N. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 15. P. 14929–14936.
- Mattila P.K., Pykäläinen A., Saarikangas J., Paavilainen V.O., Vihinen H., Jokitalo E., Lappalainen P. // *J. Cell Biol.* 2007. V. 176. № 7. P. 953–964.
- Suetsugu S., Murayama K., Sakamoto A., Hanawa-Suetsugu K., Seto A., Oikawa T., Mishima C., Shirouzu M., Takenawa T., Yokoyama S. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 46. P. 35347–35358.
- Millard T.H., Bompard G., Heung M.Y., Dafforn T.R., Scott D.J., Machesky L.M., Fütterer K. // *EMBO J.* 2005. V. 24. № 2. P. 240–250.
- Lee S.H., Kerff F., Chereau D., Ferron F., Klug A., Dominguez R. // *Structure.* 2007. V. 15. № 2. P. 145–155.
- Saarikangas J., Zhao H., Pykäläinen A., Laurinmäki P., Mattila P.K., Kinnunen P.K.J., Butcher S.J., Lappalainen P. // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. № 2. P. 95–107.
- Kim M.-H., Choi J., Yang J., Chung W., Kim J.-H., Paik S.K., Kim K., Han S., Won H., Bae Y.-S., et al. // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. № 5. P. 1586–1595.
- Krugmann S., Jordens I., Gevaert K., Driessens M.,

- Vandekerckhove J., Hall A. // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. № 21. P. 1645–1655.
36. Scita G., Confalonieri S., Lappalainen P., Suetsugu S. // *Trends Cell Biol.* 2008. V. 18. P. 52–60.
37. Robens J.M., Yeow-Fong L., Ng E., Hall C., Manser E. // *Mol. Cell. Biol.* 2010. V. 30. № 3. P. 829–844.
38. Millard T.H., Dawson J., Machesky L.M. // *J. Cell Sci.* 2007. V. 120. № 9. P. 1663–1672.
39. Lee Y.-G., Macoska J.A., Korenchuk S., Pienta K.J. // *Neoplasia.* 2002. V. 4. № 4. P. 291–294.
40. Machesky L.M., Johnston S.A. // *J. Mol. Med. (Berl.)* 2007. V. 85. № 6. P. 569–576.
41. Woodings J.A., Sharp S.J., Machesky L.M. // *Biochem. J.* 2003. V. 371. Pt 2. P. 463–471.
42. Wang Y., Zhou K., Zeng X., Lin J., Zhan X. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 10. P. 7624–7631.
43. Bershteyn M., Atwood S.X., Woo W.M., Li M., Oro A.E. // *Dev. Cell.* 2010. V. 19. № 2. P. 270–283.
44. Saarikangas J., Hakanen J., Mattila P.K., Grumet M., Salminen M., Lappalainen P. // *J. Cell Sci.* 2008. V. 121. P. 1444–1454.
45. Pykäläinen A., Boczkowska M., Zhao H., Saarikangas J., Rebowski G., Jansen M., Hakanen J., Koskela E.V., Peränen J., Vihinen H., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2011. V. 18. № 8. P. 902–907.
46. Heath R.J.W., Insall R.H. // *J. Cell Sci.* 2008. V. 121. № 12. P. 1951–1954.
47. Dent E.W., Kwiatkowski A.V., Mebane L.M., Philippar U., Barzik M., Rubinson D.A., Gupton S., van Veen J.E., Furman C., Zhang J., et al. // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. № 12. P. 1347–1359.
48. Tanaka E., Sabry J. // *Cell.* 1995. V. 83. № 2. P. 171–176.
49. Machesky L.M. // *FEBS Lett.* 2008. V. 582. № 14. P. 2102–2111.
50. Liu S., Xiong X., Zhao X., Yang X., Wang H. // *J. Hematol. Oncol.* 2015. V. 8. № 1. P. 1–14.
51. Aspenström P. // *Curr. Biol.* 1997. V. 7. № 7. P. 479–487.
52. Tsujita K., Suetsugu S., Sasaki N., Furutani M., Oikawa T., Takenawa T. // *J. Cell Biol.* 2006. V. 172. № 2. P. 269–279.
53. Wang Q., Navarro M.V.A.S., Peng G., Molinelli E., Goh S.L., Judson B.L., Rajashankar K.R., Sondermann H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 31. P. 12700–12705.
54. Zhao H., Michelot A., Koskela E.V., Tkach V., Stamou D., Drubin D.G., Lappalainen P. // *Cell Rep.* 2013. V. 4. № 6. P. 1213–1223.
55. Roumanie O., Peypouquet M.F., Bonneau M., Thoraval D., Doignon F., Crouzet M. // *Mol. Microbiol.* 2000. V. 36. № 6. P. 1403–1414.
56. Moravcevic K., Alvarado D., Schmitz K.R., Kenniston J.A., Mendrola J.M., Ferguson K.M., Lemmon M. // *Structure.* 2015. V. 23. № 2. P. 352–363.
57. Henne W.M., Kent H.M., Ford M.G., Hegde B.G., Daumke O., Butler P.J., Mittal R., Langen R., Evans P.R., McMahon H.T. // *Structure.* 2007. V. 15. № 7. P. 839–852.
58. Aresta S., de Tand-Heim M.-F., Beranger F., de Gunzburg J. // *Biochem. J.* 2002. V. 367. № 1. P. 57–65.
59. Andrieu G., Quaranta M., Leprince C., Cuvillier O., Hatzoglou A. // *Carcinogenesis.* 2014. V. 35. № 11. P. 2503–2511.
60. Ota H., Hikita T., Sawada M., Nishioka T., Matsumoto M., Komura M., Ohno A., Kamiya Y., Miyamoto T., Asai N., et al. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. № 5. P. 4532.
61. Tanaka-Takiguchi Y., Itoh T., Tsujita K., Yamada S., Yanagisawa M., Fujiwara K., Yamamoto A., Ichikawa M., Takiguchi K. // *Langmuir.* 2013. V. 29. № 1. P. 328–336.
62. Isas J.M., Ambroso M.R., Hegde P.B., Langen J., Langen R. // *Structure.* 2015. V. 23. № 5. P. 873–881.
63. McMahon H.T., Boucrot E. // *J. Cell Sci.* 2015. V. 128. № 6. P. 1065–1070.
64. Boucrot E., Pick A., Çamdere G., Liska N., Evergren E., McMahon H.T., Kozlov M.M. // *Cell.* 2012. V. 149. № 1. P. 124–136.
65. Ramesh P., Baroji Y.F., Reihani S.N.S., Stamou D., Oddershede L.B., Bendix P.M. // *Sci. Rep.* 2013. V. 3. P. 1565.
66. Prévost C., Zhao H., Manzi J., Lemichez E., Lappalainen P., Callan-Jones A., Bassereau P. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 8529.
67. Simunovic M., Voth G.A. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 7219.
68. Shi Z., Baumgart T. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 5974.
69. Sorre B., Callan-Jones A., Manzi J., Goud B., Prost J., Bassereau P., Roux A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 1. P. 173–178.
70. Zhu C., Das S.L., Baumgart T. // *Biophys. J.* 2012. V. 102. № 8. P. 1837–1845.
71. Wu T., Shi Z., Baumgart T. // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 4. P. e93060.
72. Adam J., Basnet N., Mizuno N. // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 15452.
73. Frost A., Perera R., Roux A., Spasov K., Destaing O., Egelman E.H., De Camilli P., Unger V.M. // *Cell.* 2008. V. 132. № 5. P. 807–817.
74. Ringstad N., Nemoto Y., De Camilli P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. № 16. P. 8569–8574.
75. Faelber K., Posor Y., Gao S., Held M., Roske Y., Schulze D., Hauke V., Noé F., Daumke O. // *Nature.* 2011. V. 477. № 7366. P. 556–560.
76. Mizuno N., Jao C.C., Langen R., Steven A.C. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 30. P. 23351–23358.
77. Левцова О.В., Давлетов И.Д., Соколова О.С., Шайтан К.В. // *Биофизика.* 2011. Т. 56. № 2. P. 242–247.
78. Zhao H., Pykäläinen A., Lappalainen P. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2011. V. 23. № 1. P. 14–21.
79. Cui H., Mim C., Vázquez F.X., Lyman E., Unger V.M., Voth G.A. // *Biophys. J.* 2013. V. 104. № 2. P. 404–411.
80. Ambroso M.R., Hegde B.G., Langen R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. № 19. P. 6982–6987.
81. Matta S., van Kolen K., da Cunha R., van den Bogaart G., Mandemakers W., Miskiewicz K., De Bock P.-J., Morais V.A., Vilain S., Haddad D., et al. // *Neuron.* 2012. V. 75. № 6. P. 1008–1021.
82. McDonald N.A., Vander Kooi C.W., Ohi M.D., Gould K.L. // *Dev. Cell.* 2015. V. 35. № 6. P. 725–736.
83. Traub L.M. // *Dev. Cell.* 2015. V. 35. № 6. P. 664–666.
84. Cao H., Yin X., Cao Y., Jin Y., Wang S., Kong Y., Chen Y., Gao J., Heller S., Xu Z. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 2. P. 1–11.
85. Sun X., Pinacho R., Saia G., Punko D., Meana J.J., Ramos B., Gill G. // *Dev. Neurobiol.* 2015. V. 75. № 1. P. 93–108.
86. Sadowski L., Pilecka I., Miaczynska M. // *Exp. Cell Res.* 2009. V. 315. № 9. P. 1601–1609.
87. Collins C.A., DiAntonio A. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2007. V. 17. № 1. P. 35–42.
88. Dickman D.K., Lu Z., Meinertzhagen I.A., Schwarz T.L. // *Curr. Biol.* 2006. V. 16. № 6. P. 591–598.
89. Khodosh R., Augsburg A., Schwarz T.L., Garrity P.A. // *Development.* 2006. V. 133. № 23. P. 4655–4665.
90. Wang X., Shaw W.R., Tsang H.T.H., Reid E., O’Kane C.J. // *Nat. Neurosci.* 2007. V. 10. № 2. P. 177–185.
91. Cherbas L., Willingham A., Zhang D., Yang L., Zou Y., Eads B.D., Carlson J.W., Landolin J.M., Kapranou P., Dumais J., et al. // *Genome Res.* 2011. V. 21. № 2. P. 301–314.
92. Becalska A.N., Kelley C.F., Berciu C., Stanishneva-Kononova T.B., Fu X., Wang S., Sokolova O.S., Nicastro D., Rodal A.A. // *Mol. Biol. Cell.* 2013. V. 24. № 15. P. 2406–2418.

93. Kelley C.F., Becalska A.N., Berciu C., Nicastro D., Rodal A.A. // *Commun. Integr. Biol.* 2015. V. 8. № 2. P. e1000703.
94. Rodal A.A., Blunk A.D., Akbergenova Y., Jorquera R.A., Buhl L.K., Littleton J.T. // *J. Cell Biol.* 2011. V. 193. № 1. P. 201–217.
95. Rodal A.A., Motola-Barnes R.N., Littleton J.T. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. № 33. P. 8316–8325.
96. Kaksonen M., Toret C.P., Drubin D.G. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006. V. 7. № 6. P. 404–414.
97. Tomasevic N., Jia Z., Russell A., Fujii T., Hartman J.J., Clancy S., Wang M., Beraud C., Wood K.W., Sakowicz R. // *Biochemistry.* 2007. V. 46. № 11. P. 3494–3502.
98. Stanishneva-Konovalova T.B., Sokolova O.S. // *Comput. Theor. Chem.* 2015. V. 1058. P. 61–66.
99. Lupyan D., Mezei M., Logothetis D.E., Osman R. // *Biophys. J.* 2010. V. 98. № 2. P. 240–247.
100. Ruiz-Herrero T., Hagan M.F. // *Biophys. J.* 2015. V. 108. № 3. P. 585–595.
101. Tsujita K., Takenawa T., Itoh T. // *Nat. Cell Biol.* 2015. V. 17. № 6. P. 749–758.
102. Roberts-Galbraith R.H., Gould K.L. // *Cell Cycle.* 2010. V. 9. № 20. P. 4091–4097.
103. Wu T., Baumgart T. // *Biochemistry.* 2014. V. 53. № 46. P. 7297–7309.