

УДК 577.352.465; 576.32/.36

# Роль адаптерного белка MIM в актин-зависимой регуляции эпителиальных натриевых каналов (ENaC)

Л. С. Шуйский<sup>1,2\*</sup>, В. В. Левченко<sup>2</sup>, Ю. А. Негуляев<sup>1,3</sup>, А. В. Старущенко<sup>2</sup>, Д. В. Илатовская<sup>2,4</sup><sup>1</sup>Институт цитологии РАН, 194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4<sup>2</sup>Department of Physiology, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA<sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, кафедра медицинской физики, 195251, Россия, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 2<sup>4</sup>Medical University of South Carolina, Department of Medicine, Division of Nephrology, 96 Jonathan Lucas St, MSC 629 CSB 822, Charleston, SC 29425, USA

\*E-mail: leonid.shuyskiy@gmail.com

Поступила в редакцию 09.11.2017

Принята к печати 03.04.2018

**РЕФЕРАТ** Эпителиальные натриевые каналы (ENaC) располагаются на апикальной мембране клеток различных эпителиев, в частности, в собирательных трубочках почки, где обеспечивают тонкую регуляцию реабсорбции ионов натрия. Динамические перестройки актинового цитоскелета являются одним из основных механизмов регуляции активности ENaC. В этот процесс вовлечены актинсвязывающие белки кортактин и комплекс Arp2/3, которые уменьшают вероятность открытого состояния канала; однако до сих пор неизвестны конкретные звенья регуляции активности ENaC. Мы предположили, что одним из компонентов регуляции может быть адаптерный белок MIM (missing-in-metastasis), обладающий доменами связывания с PIP<sub>2</sub>-богатыми участками плазматической мембраны, микрофиламентами, GTP-азами Rac (домен IMD), а также кортактином (домен PRD) и G-актином (домен WH2). Вовлечение белка MIM в актин-зависимую регуляцию ENaC изучали с использованием метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole-cell на модели временной трансфекции клеток линии CHO. Котрансфекция субъединиц ENaC с белком MIM или его мутантными формами привела к уменьшению плотности ENaC-опосредованного тока. Временная трансфекция клеток разными формами белка MIM выявила важную роль доменов PRD и WH2 в индукции перестроек актинового цитоскелета. Результаты электрофизиологических исследований и окрашивание актинового цитоскелета дают основание предполагать, что белок MIM, вероятно, входит в состав мультибелкового комплекса, отвечающего за актин-зависимую регуляцию активности ENaC.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** ENaC, MIM, кортактин, комплекс Arp2/3, актиновый цитоскелет.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ENaC – эпителиальный натриевый канал; mENaC – эпителиальный натриевый канал мыши; MIM (missing-in-metastasis) – адаптерный белок; *mtss1* – ген, кодирующий белок MIM.

## ВВЕДЕНИЕ

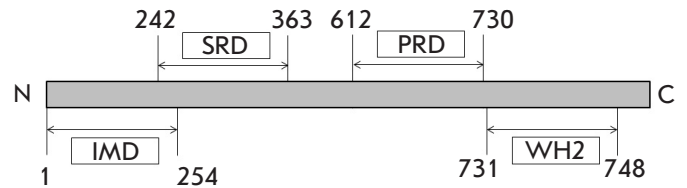
В эпителиальных клетках микрофиламенты (МФ, фибриллярный актин, или F-актин) вовлечены в регуляцию клеточных контактов, образование ламеллоподий и филоподий, модуляцию активности ионных каналов и другие процессы [1, 2]. Актиновый цитоскелет прямо или опосредованно (при участии актинсвязывающих белков) связан с цитоплазматическими участками ионных каналов и регулирует их воротные свойства, встраивание, интернализацию и др. [3–11]. Показано прямое взаимодействие актинового цитоскелета с эпителиальными натриевыми

каналами (ENaC) [11–14], водными каналами аквапорин 2 (AQP2) [15–17], каналами «муковисцидоза» (CFTR) [18–20] и др. Реорганизация актинового цитоскелета влияет на активность ионных каналов [7, 21–24]. Действие цитохалазина Д приводит к увеличению вероятности открытого состояния ( $P_o$ ) ENaC [10]. Предполагается, что именно короткие микрофиламенты, а не глобулярный G-актин или длинные фибриллы F-актина, регулируют активность различных ионных каналов [5, 10, 25, 26].

Ионные каналы ENaC, относящиеся к суперсемейству DEG/ENaC (дегенерины/эпителиальные натри-

евые каналы), экспрессируются в различных органах и тканях человека и животных (эпителии почки, легких, кишечника и др.) и обеспечивают направленный перенос ионов натрия от апикальной мембраны к базолатеральной. Отличительной чертой каналов суперсемейства DEG/ENaC является блокирование диуретиком амилоридом в наномолярной концентрации [27]. Согласно современным представлениям, функциональный канал ENaC образован тремя субъединицами –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  в соотношении 1 : 1 : 1 [28, 29]. В почке ENaC экспрессируется в эпителиальных клетках собирательных трубочек и опосредует регулирующую реабсорбцию ионов натрия, играя важную роль в поддержании водно-солевого гомеостаза и в регуляции давления крови [30, 31]. Обнаружена колокализация ENaC с актиновыми филаментами [14, 32] и актинсвязывающими белками (анкирин, спектрин и др. [33]). Показано взаимодействие канала с SH3-доменом  $\alpha$ -спектрина за счет богатого пролином участка на С-конце  $\alpha$ -субъединицы ENaC [25, 33, 34]. Существующая модель регуляции ENaC постоянно дополняется новыми данными – недавно было выявлено, что в доставке ENaC на апикальную мембрану клеток в собирательных трубочках почки участвует цитоскелетсвязывающий белок анкирин G [35]. Нами предложена модель, согласно которой кортактин (через комплекс Arp2/3) является связующим звеном между каналом и цитоскелетом клеток собирательных трубочек почки мыши [36]. Взаимодействие ENaC с цитоскелетом через адаптерные белки играет важную функциональную роль в регуляции реабсорбции натрия в дистальном отделе нефрона.

В 2002 году был открыт адаптерный белок MIM (missing-in-metastasis, отсутствующий при метастазировании), продукт гена *mtss1* (metastasis suppressor 1, супрессор метастазирования). Этот актинсвязывающий белок, как изначально предполагалось [37], значим при метастазировании некоторых видов злокачественных новообразований. MIM обнаружен как транскрипт, отсутствующий в клеточной линии метастатического рака молочной железы (клеточная линия SKBR3) и клеточных линиях метастатической аденокарциномы предстательной железы (LNCaP и PC3) [37–39]. Предполагалось, что MIM может функционировать как супрессор метастазирования [37], однако однозначного мнения на этот счет не сложилось [40, 41]. Обнаружено, что повышение экспрессии MIM коррелирует с некоторыми видами злокачественной трансформации, например при меланоме и плоскоклеточном раке головы и шеи [42, 43]. Повышение экспрессии MIM коррелирует с прогрессированием гепатокарциномы [44]. MIM включает в себя несколько важных доменов,



**Рис. 1.** Доменная структура белка MIM мыши (ген *mtss1*, UniProt Q8R1S4). Домен IMD связывает активные филаменты, PIP<sub>2</sub>-богатые участки мембраны, малые GTP-азы Ras, участвует в димеризации белка. Домен SRD содержит сайты фосфорилирования по тирозину. Домен PRD связывается с кортактином и тирозинфосфатазой дельта. Домен WH2 связывает G-актин

которые, по всей видимости, играют ключевую роль во взаимодействии с другими белками (см. рис. 1). Так, N-концевой домен IMD (IRSp53-MIM homology domain) связывает актиновые филаменты, обогащенные PIP<sub>2</sub>-участки мембраны, малые GTP-азы Ras и участвует в димеризации белка. Домен SRD (serine rich domain) содержит сайты фосфорилирования по тирозину; домен PRD (proline rich domain) связывается с кортактином и тирозинфосфатазой дельта; С-концевой домен WH2 (WASP homology domain 2) связывает G-актин. Предположительно, MIM вовлечен в регуляцию актинового цитоскелета посредством двух независимых актинсвязывающих доменов: IMD и WH2 [37, 39]. Показана колокализация MIM с кортактином, и вероятное их взаимодействие с помощью пролин-богатого домена белка (PRD) MIM [45]. MIM участвует в перестройках цитоскелета [38, 45, 46] – повышенная экспрессия MIM сопровождается формированием актин-богатых протрузий, наподобие раффов и микрошипигов [47]. В клетках эпителия почки мыши MIM колокализуется с комплексом Arp2/3, где он может опосредовать сборку актиновых филаментов [48, 49]. Функционально активный белок собирается, по-видимому, в гомодимеры, и важную роль в этом процессе играет домен IMD [50]. MIM экспрессируется в почке эмбрионов мыши в области ветвящихся собирательных трубочек, тубул и гломерул [51]. Значительная экспрессия MIM обнаружена в кортикальном слое почек новорожденных мышей, слабая – в мозговой области. Мыши с нарушением гена *mtss1* (MIM<sup>-/-</sup>) рождались здоровыми, но к 5 месяцу жизни почки примерно половины животных содержали большие и многочисленные кисты, проявляя признаки аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек [51]. MIM модулирует взаимодействие между цитоскелетом и плазматической мембраной, способствуя поддержанию клеточных контактов в эпителии почки [52]. Учитывая

важную роль белка MIM в функционировании клеток эпителия почки, возникает вопрос об участии данного белка в регуляции активности ENaC. Задачей нашей работы было изучение вовлечения белка MIM в актин-зависимую регуляцию ENaC и расширение модели регуляции ENaC актинсвязывающими белками.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Клеточные линии

В работе использована клеточная линия СНО (Chinese Hamster Ovary cells) – иммортализованная клеточная линия, полученная на основе эпителиальных клеток яичников китайского хомяка (СНО-К1, Американская коллекция клеточных культур). Клетки культивировали в чашках Петри в среде DMEM, содержащей 10% сыворотки крови плодов коровы и 80 мкг/мл гентамицина.

### Временная трансфекция

В работе использованы плазмиды, кодирующие:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -субъединицы mENaC [36, 53] и различные формы белка MIM мыши (предоставлены доктором Lappalainen и доктором Zhao [45, 49, 54]). MIM full – полноценный белок; MIM PH – химерный белок, в котором инактивированный домен IMD конъюгирован с доменом PH (pleckstrin homology – домен, гомологичный плекстрину) фосфолипазы C дельта 1 (PLCD1), с нарушением способности димеризоваться; MIM  $\Delta$ PRD – белок с делецией домена PRD ( $\Delta$ 617–727), не взаимодействует с кортактином; MIM  $\Delta$ WH2 – белок с делецией домена WH2 ( $\Delta$ 746–759), не полимеризующий G-актин; MIM/IMD-L – плазида кодирует только длинный вариант сплайсинга отдельного домена IMD, который не способен взаимодействовать с GTP-азами Rac (остальная часть белка отсутствует). Все MIM-плазмиды кодируют белок мыши, они основаны на векторе pEGFP-N5. Вся информация по созданию плазмид приведена в ранее опубликованных статьях [49, 54]. Перестройки актинового цитоскелета анализировали с использованием временной трансфекции клеток различными плазмидами, кодирующими белок MIM и его мутантные формы, контролем служила трансфекция GFP. Для электрофизиологических экспериментов клетки высевали на покровные стекла  $4 \times 4$  мм так, чтобы в день трансфекции плотность монослоя составляла 50–60%. За 24 ч до экспериментов проводили временную трансфекцию  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -субъединицами mENaC (соотношение 1 : 1 : 1) вместе с различными формами белка MIM. Весовое соотношение плазмидной ДНК:  $\alpha$ -mENaC – 0.33 мкг,  $\beta$ -mENaC – 0.33 мкг,  $\gamma$ -mENaC – 0.33 мкг (суммарно 1 мкг плазмид, кодирующих mENaC), GFP в контроле – 1 мкг, MIM

(любой вариант имел GFP-метку) – 1 мкг. Суммарно на одну временную трансфекцию – 2 мкг плазмидной ДНК. Все эксперименты проводили на клетках линии СНО с использованием трансфицирующего реагента Polyfect (Qiagen). Маркером успешной трансфекции в контроле служила плазида, кодирующая GFP.

### Визуализация актинового цитоскелета фиксированных клеток

Фиксацию и окрашивание трансфицированных клеток линии СНО проводили по стандартному протоколу [36]. Клетки высевали на покровные стекла ( $12 \times 12$  мм), на следующий день промывали PBS, фиксировали в течение 10 мин при комнатной температуре 3.7% формальдегидом. Далее клетки перфорировали 0.1% Triton X-100 (5 мин, комнатная температура), инкубировали в 2-мкМ растворе родамина-фаллоидина в течение 15 мин при 37°C (Sigma-Aldrich). Ядра окрашивали красителем Hoechst-33342 (5 мкг/мл, инкубация 5 мин, комнатная температура) и закрепляли на предметном стекле при помощи среды Vectashield (Vector Laboratories). После добавления каждого реагента (предварительно растворены в PBS) следовала промывка раствором PBS. Визуализацию осуществляли с помощью конфокального микроскопа Nikon A-1R, объектив  $\times 100$ , цифровое увеличение. Использовали лазеры с длинами волн возбуждения 405 нм (Hoechst-33342, максимум эмиссии 461 нм), 488 нм (GFP, максимум эмиссии 509 нм) и 561 нм (родамин-фаллоидин, максимум эмиссии 565 нм). Анализ и обработку изображений проводили в программном обеспечении ImageJ.

### Электрофизиология

Интегральные токи регистрировали с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole-cell. Для определения максимального значения ENaC-опосредованного интегрального тока эксперименты проводили в условиях постоянного протока жидкости в камере (shear-stress); для определения минимального значения в конце эксперимента ENaC-опосредованный интегральный ток блокировали добавлением амилорида (10 мкМ). В работе использовали усилитель Axopatch 200B (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, США), связанный посредством АЦП-ЦАП Digidata 1440A с компьютером с установленным программным обеспечением pClamp 10.2 (Molecular Devices). Во время проведения экспериментов использовали фильтр Бесселя 1 кГц. Записи токов получены в условиях фиксации напряжения с использованием ранее апробированного протокола [36] (схема подачи потенциала в эксперименте показана на рис. 3B): поддерживаемый потенциал +40 мВ, далее линей-

ное уменьшение с +60 мВ до -100 мВ (рампы, продолжительность 500 мс). Активность ENaC определяли как значение плотности тока (ток, нормализованный на электрическую емкость клетки) при потенциале -80 мВ. Для анализа использовали клетки со значением электрической емкости в интервале  $6 \div 10$  пФ (электрическую емкость клетки компенсировали перед экспериментом). В качестве отрицательного контроля использовали котрансфекцию  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -ENaC и плазмиды, кодирующей GFP (основана на векторе pEGFP), по весовому соотношению плазмидной ДНК (1 мкг ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -mENaC) и 1 мкг GFP). Внутриклеточный раствор (в мМ): 120 CsCl, 5 NaCl, 5 EGTA, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 Mg-АТФ, 40 HEPES/Трис; pH 7.4. Внеклеточный раствор (в мМ): 140 LiCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 10 HEPES/Трис, pH 7.4.

#### Статистическая обработка результатов

Все результаты представлены в виде среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Для анализа использовали непарный тест Стьюдента, рассчитанный в программном обеспечении Microcal Origin 6.1 (Microcal Software). Различия с  $p < 0.05$  считали статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Влияние различных мутантных форм белка MIM на структуру актинового цитоскелета

Нами изучено влияние белка MIM (доменная структура представлена на рис. 1) на организацию актинового цитоскелета и активность ENaC. Действие белка MIM и его мутантов на актиновый цитоскелет анализировали на фиксированных клетках линии CHO, окрашенных родамином-фаллоидином. Структура актинового цитоскелета в клетках, трансфицированных полноценным белком MIM (рис. 2, MIM full), изменялась по сравнению с контрольной трансфекцией GFP (рис. 2, GFP) – наблюдалось утолщение пучков актиновых филаментов в примембранной области, индуцировалось образование выступов клеточной мембраны (микрошипики). Трансфекция химерным белком (рис. 2, MIM PH) привела к схожим изменениям структуры актинового цитоскелета, в то время как трансфекция белком с делецией пролин-богатого домена (не взаимодействующего с кортактином; рис. 2, MIM  $\Delta$ PRD) или белком с делецией домена WH2 (не способен полимеризовать G-актин; рис. 2, MIM  $\Delta$ WH2) не вызвала подобных изменений. Трансфекция длинного варианта сплайсинга отдельного домена IMD белка MIM (не способен взаимодействовать с GTP-азами Ras; рис. 2, MIM/IMD-L) приводила к неравномерному распределению актинового цитоскелета в сравнении с трансфекцией полноценным белком. Наши результаты согласу-

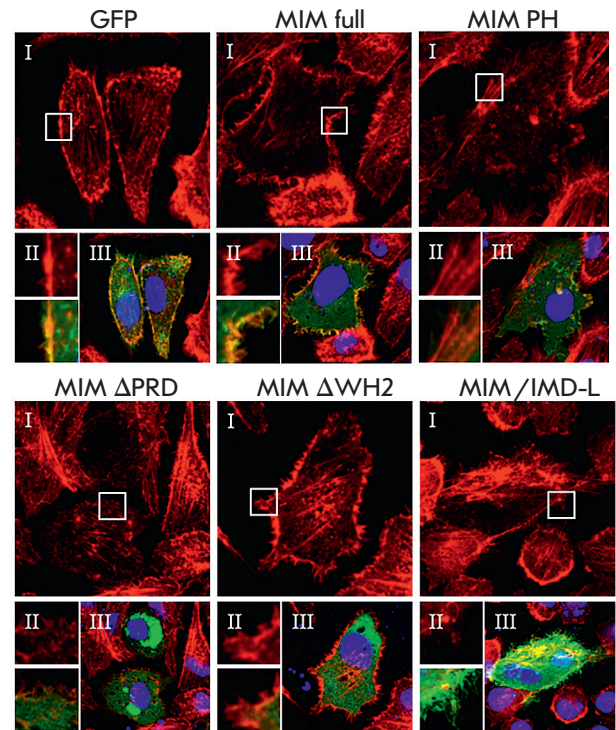
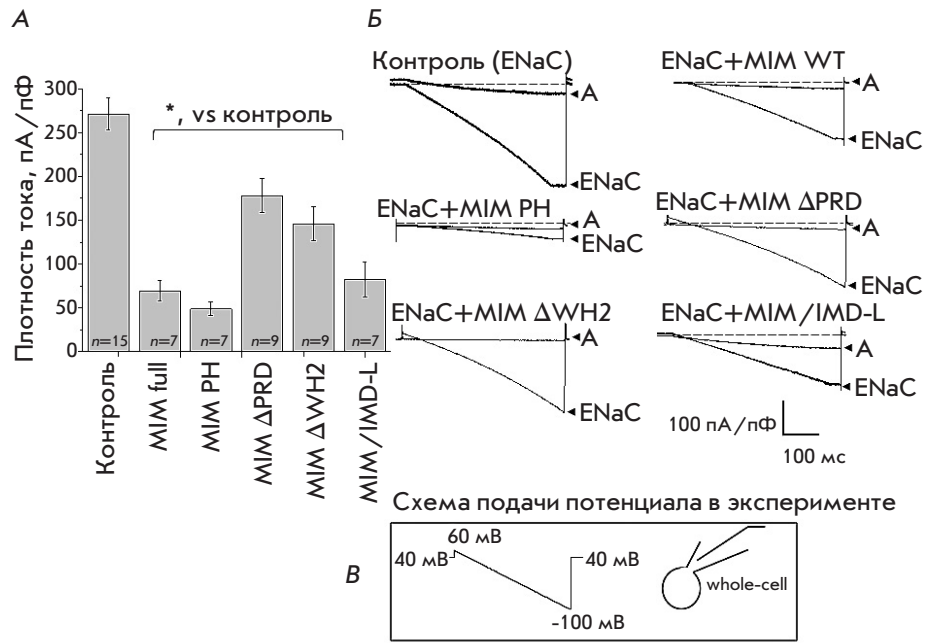


Рис. 2. Организация актинового цитоскелета после трансфекции различными мутантными формами белка MIM. Изображения актинового цитоскелета, полученные с помощью конфокального микроскопа (представлены типичные микрофотографии из трех независимых экспериментов): фиксированные клетки линии CHO после временной трансфекции плазмиды, кодирующими разные формы белка MIM (каждая плаزمида построена на векторе pEGFP). GFP – контрольная трансфекция; MIM full – полноценный белок; MIM PH – химерный белок, инактивированный домен IMD конъюгирован с доменом PH PLCD1, нарушена способность димеризоваться; MIM  $\Delta$ PRD – белок с делецией домена PRD ( $\Delta$ 617–727), не взаимодействует с кортактином; MIM  $\Delta$ WH2 – белок с делецией домена WH2 ( $\Delta$ 746–759), не полимеризует G-актин; MIM/IMD-L – длинный вариант сплайсинга отдельного домена IMD (остальная часть белка отсутствует), не способен взаимодействовать с GTP-азами Ras. I – Канал эмиссии родамина-фаллоидина (красный). II – увеличенные изображения выбранных участков: сверху – флуоресценция родамина-фаллоидина, снизу – совмещенное изображение. III – совмещенное изображение эмиссии GFP (зеленый), родамина-фаллоидина (красный) и Hoechst-33342 (краситель нуклеиновых кислот, синий)

ются с данными, полученными на клеточной линии фибробластов 3T3 [38], где трансфекция MIM-GFP приводила к появлению аномальных червеобразных (worm-like) актиновых структур и уменьше-

**Рис. 3.** Влияние различных мутантных форм белка MIM на плотность интегрального амилорид-чувствительного натриевого тока. Клетки линии CHO котрансфицированы тремя субъединицами mENaC вместе с GFP (контроль) либо mENaC вместе с различными формами белка MIM. **А** – суммирующая гистограмма плотностей тока, полученных в электрофизиологических экспериментах с использованием метода локальной фиксации потенциала в конфигурации whole-cell (*n* – число независимых экспериментов; \* – *p* < 0.05). **Б** – записи типичных ENaC-опосредованных интегральных токов (ENaC – амплитуда тока, А – добавление амилорида в концентрации 10 мкМ). **В** – схема подачи потенциала в эксперименте



нию стресс-фибрилл. Сходные перестройки актинового цитоскелета наблюдали после трансфекции MIM/IMD-L (длинный вариант отдельного домена IMD) при изучении домена IMD в клетках линии U2OS [49]. Высказано предположение, что это происходит вследствие искривления плазматической мембраны. Таким образом, выявленные в нашем исследовании перестройки актинового цитоскелета связаны с доменами PRD и WH2 белка MIM. В связи с тем, что своим пролин-богатым доменом PRD MIM взаимодействует с кортактином, можно предположить, что белок MIM модулирует кортактин-зависимую и Arp2/3-опосредованную полимеризацию актина [52], важную для реализации различных клеточных функций, в том числе для образования клеточных выростов [49].

### Влияние белка MIM на опосредованный ENaC интегральный ток

Динамические перестройки актинового цитоскелета являются одним из механизмов регуляции активности ENaC [14, 32]. Согласно данным, полученным нами на клеточной линии эпителия почки мыши, в регуляцию ENaC вовлечены актинсвязывающие белки кортактин и комплекс Arp2/3 [36]. Экспрессия белка MIM обнаружена в отделе почки, где экспрессируется ENaC, и установлена его колокализация с кортактином и белками, образующими комплекс Arp2/3 [45, 52]. В электрофизиологических экспериментах получены следующие значения плотности интегрального ENaC-опосредованного тока (пА/пФ):

в контроле –  $271.2 \pm 18.3$ , после котрансфекции с MIM full –  $69.6 \pm 11.9$ , с MIM PH –  $48.9 \pm 7.8$ , с MIM ΔPRD –  $178.0 \pm 19.3$ , с MIM ΔWH2 –  $146.0 \pm 19.4$ , с MIM/IMD-L –  $82.7 \pm 19.8$ . Суммарный график и примеры записей токов представлены на рис. 3А,Б. Как представлено на рис. 3А, ENaC-опосредованный ток был значительно ниже, когда субъединицы канала были трансфицированы совместно с MIM full. Кроме того, мы показали, что все протестированные нами мутанты значительно снижали активность канала по сравнению с контролем, в котором канал экспрессировался без белков MIM. Однако мутантные формы MIM (ΔPRD и ΔWH2) оказывали самое слабое влияние на плотность интегрального тока. Таким образом, мы можем предположить, что белок MIM (вместе с актинсвязывающими белками кортактином и комплексом Arp2/3) вовлечен в актин-опосредованную регуляцию ENaC. На основании полученных данных выдвинута гипотеза (рис. 4), согласно которой многофункциональный адаптерный белок MIM участвует в цитоскелет-опосредованной регуляции ENaC.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Давление крови в организме прямо зависит от гомеостаза ионов натрия ( $\text{Na}^+$ ); контроль этого процесса осуществляют почки за счет реабсорбции  $\text{Na}^+$  и воды при помощи различных ионных каналов и транспортеров, в том числе эпителиальных натриевых каналов (ENaC), в альдостерон-чувствительном дистальном отделе нефрона. Снижение вероятности от-

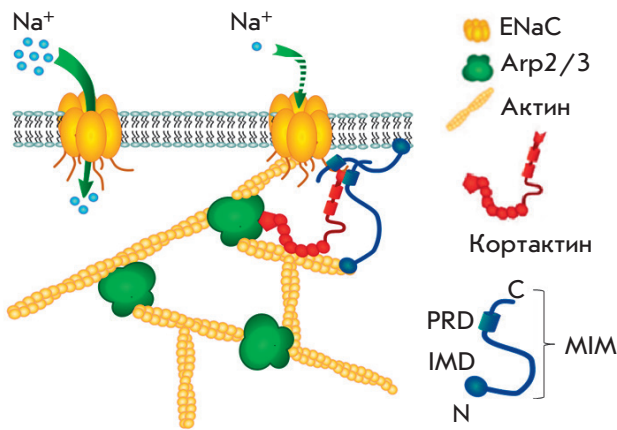


Рис. 4. Предложенная схема актин-зависимой регуляции ENaC с участием актинсвязывающих белков MIM, кортактина и белков, входящих в комплекс Arp2/3

крытого состояния ENaC, как показано ранее [36], может происходить вследствие кортактин-зависимой и Arp2/3-опосредованной реорганизации актинового цитоскелета, однако точный механизм регуляции активности ENaC актиновым цитоскелетом и адаптерными белками до конца не изучен. Новым участником многокомпонентной модели регуляции ENaC, возможно, является адаптерный белок MIM. С использованием метода локальной фиксации по-

тенциала удалось определить, что MIM участвует в цитоскелет-опосредованной регуляции активности ENaC, и показать важную роль доменов PRD и WH2. Полученные изображения актинового цитоскелета подтверждают участие белка MIM в процессах организации актинового цитоскелета. Таким образом, активность ENaC регулируется перестройками актинового цитоскелета при участии сложноорганизованного мультибелкового комплекса, который может включать в себя помимо кортактина и комплекса Arp2/3 также MIM (рис. 4). Изучение тонкой регуляции работы этого комплекса важно для понимания молекулярных механизмов, которые могут лежать в основе многих патофизиологических состояний. ●

Авторы благодарят Dr. Xi Zhan (University of Maryland School of Medicine) и Dr. Pekka Lappalainen (University of Helsinki) за предоставленные плазмиды для работы с белком MIM. Мы также благодарим И.О. Васильеву, В.И. Чубинского-Надеждина, Е.А. Морачевскую (Институт цитологии РАН) и Ю. Полину (Медицинский университет Южной Каролины) за критические комментарии, учтенные при написании данной статьи.

Работа поддержана грантами National Heart, Lung, and Blood Institute (R35 HL135749 and R01 HL108880) и National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease (R00 DK105160).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Janmey P.A. // *Physiol. Rev.* 1998. V. 78. № 3. P. 763–781.
- Le Clainche C., Carlier M.F. // *Physiol. Rev.* 2008. V. 88. № 2. P. 489–513.
- Wang Q., Zheng W., Wang Z., Yang J., Hussein S., Tang J., Chen X.Z. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 4. P. e0123018.
- Sudarikova A.V., Tsaplina O.A., Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Morachevskaya E.A., Negulyaev Y.A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. V. 461. № 1. P. 54–58.
- Karpushev A.V., Ilatovskaya D.V., Staruschenko A. // *BMC Res. Notes.* 2010. V. 3. P. 210.
- Alli A.A., Bao H.F., Liu B.C., Yu L., Aldrugh S., Montgomery D.S., Ma H.P., Eaton D.C. // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2015. V. 309. № 5. P. F456–463.
- Sasaki S., Yui N., Noda Y. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1838. № 2. P. 514–520.
- Rooj A.K., Liu Z., McNicholas C.M., Fuller C.M. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2015. V. 309. № 5. P. C308–319.
- Karpushev A.V., Levchenko V., Ilatovskaya D.V., Pavlov T.S., Staruschenko A. // *Hypertension.* 2011. V. 57. № 5. P. 996–1002.
- Karpushev A.V., Ilatovskaya D.V., Pavlov T.S., Negulyaev Y.A., Staruschenko A. // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 1. P. e8827.
- Shin S.H., Lee E.J., Hyun S., Chun J., Kim Y., Kang S.S. // *Cell Signal.* 2012. V. 24. № 3. P. 641–651.
- Jovov B., Tousson A., Ji H.L., Keeton D., Shlyonsky V., Ripoll P.J., Fuller C.M., Benos D.J. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 53. P. 37845–37854.
- Copeland S.J., Berdiev B.K., Ji H.L., Lockhart J., Parker S., Fuller C.M., Benos D.J. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2001. V. 281. № 1. P. C231–240.
- Mazzochi C., Buben J.K., Smith P.R., Benos D.J. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 10. P. 6528–6538.
- Noda Y., Horikawa S., Katayama Y., Sasaki S. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 322. № 3. P. 740–745.
- Noda Y., Sasaki S. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. V. 1758. № 8. P. 1117–1125.
- Moeller H.B., Praetorius J., Rutzler M.R., Fenton R.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 1. P. 424–429.
- Rogan M.P., Stoltz D.A., Hornick D.B. // *Chest.* 2011. V. 139. № 6. P. 1480–1490.
- Cantiello H.F. // *Exp. Physiol.* 1996. V. 81. № 3. P. 505–514.
- Chasan B., Geisse N.A., Pedatella K., Wooster D.G., Teintze M., Carattino M.D., Goldmann W.H., Cantiello H.F. // *Eur. Biophys. J.* 2002. V. 30. № 8. P. 617–624.
- Negulyaev Y.A., Vedernikova E.A., Maximov A.V. // *Mol. Biol. Cell.* 1996. V. 7. № 12. P. 1857–1864.
- Negulyaev Y.A., Khaitlina S.Y., Hinssen H., Shumilina E.V., Vedernikova E.A. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 52. P. 40933–40937.
- Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Sudarikova A.V., Nikolsky N.N.,

- Morachevskaya E.A. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2013. V. 450. P. 126–129.
24. Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Negulyaev Y.A., Morachevskaya E.A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011. V. 412. № 1. P. 80–85.
25. Cantiello H.F., Stow J.L., Prat A.G., Ausiello D.A. // *Am. J. Physiol.* 1991. V. 261. № 5 Pt 1. P. C882–888.
26. Staruschenko A., Negulyaev Y.A., Morachevskaya E.A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. V. 1669. № 1. P. 53–60.
27. Kleyman T.R., Cragoe E.J., Jr. // *Semin. Nephrol.* 1988. V. 8. № 3. P. 242–248.
28. Staruschenko A., Adams E., Booth R.E., Stockand J.D. // *Biophys. J.* 2005. V. 88. № 6. P. 3966–3975.
29. Canessa C.M., Schild L., Buell G., Thorens B., Gautschi I., Horisberger J.D., Rossier B.C. // *Nature.* 1994. V. 367. № 6462. P. 463–467.
30. Garty H., Palmer L.G. // *Physiol Rev.* 1997. V. 77. № 2. P. 359–396.
31. Alvarez de la Rosa D., Canessa C.M., Fyfe G.K., Zhang P. // *Annu. Rev. Physiol.* 2000. V. 62. P. 573–594.
32. Mazzochi C., Benos D.J., Smith P.R. // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2006. V. 291. № 6. P. F1113–1122.
33. Rotin D., Bar-Sagi D., O’Brodivich H., Merilainen J., Lehto V.P., Canessa C.M., Rossier B.C., Downey G.P. // *EMBO J.* 1994. V. 13. № 19. P. 4440–4450.
34. Smith P.R., Saccomani G., Joe E.H., Angelides K.J., Benos D.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. № 16. P. 6971–6975.
35. Klemens C.A., Edinger R.S., Kightlinger L., Liu X., Butterworth M.B. // *J. Biol. Chem.* 2017. V. 292. № 1. P. 375–385.
36. Ilatovskaya D.V., Pavlov T.S., Levchenko V., Negulyaev Y.A., Staruschenko A. // *FASEB J.* 2011. V. 25. № 8. P. 2688–2699.
37. Lee Y.G., Macoska J.A., Korenchuk S., Pienta K.J. // *Neoplasia.* 2002. V. 4. № 4. P. 291–294.
38. Mattila P.K., Salminen M., Yamashiro T., Lappalainen P. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 10. P. 8452–8459.
39. Machesky L.M., Johnston S.A. // *J. Mol. Med. (Berl).* 2007. V. 85. № 6. P. 569–576.
40. Nixdorf S., Grimm M.O., Loberg R., Marreiros A., Russell P.J., Pienta K.J., Jackson P. // *Cancer Lett.* 2004. V. 215. № 2. P. 209–220.
41. Bompard G., Sharp S.J., Freiss G., Machesky L.M. // *J. Cell. Sci.* 2005. V. 118. Pt. 22. P. 5393–5403.
42. Dawson J.C., Bruche S., Spence H.J., Braga V.M., Machesky L.M. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 3. P. e31141.
43. Mertz K.D., Pathria G., Wagner C., Saarikangas J., Sboner A., Romanov J., Gschaider M., Lenz F., Neumann F., Schreiner W., et al. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3465.
44. Ma S., Guan X.Y., Lee T.K., Chan K.W. // *Hum. Pathol.* 2007. V. 38. № 8. P. 1201–1206.
45. Lin J., Liu J., Wang Y., Zhu J., Zhou K., Smith N., Zhan X. // *Oncogene.* 2005. V. 24. № 12. P. 2059–2066.
46. Yamagishi A., Masuda M., Ohki T., Onishi H., Mochizuki N. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 15. P. 14929–14936.
47. Woodings J.A., Sharp S.J., Machesky L.M. // *Biochem. J.* 2003. V. 371. Pt 2. P. 463–471.
48. Lee S.H., Kerff F., Chereau D., Ferron F., Klug A., Dominguez R. // *Structure.* 2007. V. 15. № 2. P. 145–155.
49. Mattila P.K., Pykalainen A., Saarikangas J., Paavilainen V.O., Vihinen H., Jokitalo E., Lappalainen P. // *J. Cell. Biol.* 2007. V. 176. № 7. P. 953–964.
50. Cao M., Zhan T., Ji M., Zhan X. // *Biochem. J.* 2012. V. 446. № 3. P. 469–475.
51. Xia S., Li X., Johnson T., Seidel C., Wallace D.P., Li R. // *Development.* 2010. V. 137. № 7. P. 1075–1084.
52. Saarikangas J., Mattila P.K., Varjosalo M., Bovellan M., Hakanen J., Calzada-Wack J., Tost M., Jennen L., Rathkolb B., Hans W., et al. // *J. Cell. Sci.* 2011. V. 124. Pt 8. P. 1245–1255.
53. Staruschenko A., Pochynyuk O.M., Tong Q., Stockand J.D. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. V. 1669. № 2. P. 108–115.
54. Zhao H., Pykalainen A., Lappalainen P. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2011. V. 23. № 1. P. 14–21.