

УДК 577.29

# Клатрин-зависимый эндоцитоз и белки-адаптеры

Н. В. Попова\*, И. Е. Деев, А. Г. Петренко

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

\*E-mail: n.popova@gmail.com

Поступила в редакцию 18.10.2012

**РЕФЕРАТ** Поступление в цитоплазму эукариотических клеток макромолекул реализуется несколькими способами, из которых наиболее хорошо изучен клатрин-зависимый эндоцитоз. Хотя механизм клатрин-зависимого эндоцитоза в общих чертах понятен, постоянно обнаруживаются новые адаптерные белки, играющие различные роли в обеспечении специфической регуляции этого процесса. В обзоре рассмотрен механизм клатрин-зависимой интернализации активированных рецепторов, сопряженных с G-белками, а также приведено описание основных белков, участвующих в этом процессе.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** белки-адаптеры, клатрин, эндоцитоз.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** EEA1 (Early Endosome Antigen 1) – антиген ранних эндосом 1; GPCR (G-Protein-Coupled Receptor) – рецептор, сопряженный с G-белками; GRK (G-protein-coupled Receptor Kinase) – киназа GPCR; LDLR (Low-Density Lipoprotein Receptor) – рецептор липопротеинов низкой плотности; PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> (phosphatidylinositol-4,5-diphosphate) – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат.

## ВВЕДЕНИЕ

Эндоцитоз – фундаментальный процесс, обеспечивающий поступление в цитоплазму внеклеточных или расположенных на мембране макромолекул. Эндоцитоз необходим и для поступления в клетку питательных веществ, регуляции активности трансмембранных рецепторов, а также рециркуляции синаптических пузырьков. Клатрин-зависимый эндоцитоз – это вхождение фрагментов цитоплазматической мембраны вместе со всем содержимым в клетку в виде пузырьков, покрытых снаружи решеткой из полимеризованного клатрина. В частности, по клатрин-зависимому механизму осуществляется эндоцитоз активированных рецепторов, находящихся на поверхности клетки. После связывания молекулы рецептора с лигандом и его активации возможным становится связывание внутриклеточной части рецептора с белками-адаптерами, которые опосредуют взаимодействие рецепторов с молекулами клатрина, образующими впоследствии оболочку пузырька. В настоящее время известно несколько классов адаптерных белков.

## ЭНДОЦИТОЗ РЕЦЕПТОРОВ, СОПРЯЖЕННЫХ С G-БЕЛКАМИ, КАК ПРИМЕР КЛАТРИН-ЗАВИСИМОГО ЭНДОЦИТОЗА

Суперсемейство рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR), считается самым большим семейством мембранных белков, участвующих в пере-

даче сигналов внутрь клетки [1]. Общая структурная особенность GPCR – наличие семи  $\alpha$ -спиральных трансмембранных гидрофобных сегментов, каждый из которых образован 25–35 аминокислотными остатками [2]. N-Концевая часть GPCR и три петли между трансмембранными сегментами находятся снаружи клетки, а C-концевая часть и три другие петли обращены в цитоплазму.

Лигандами различных GPCR служат ионы, органические одоранты, амины, пептиды, белки, липиды, нуклеотиды и фотоны. Активация рецепторов лигандом приводит к образованию комплексов рецепторов с трехсубъединичными (гетеротримерными) G-белками и обмену связанного с ними GDP на GTP. Этот обмен вызывает диссоциацию G-белка на  $\alpha$ -субъединицу, связанную с GTP, и комплекс из  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц, а также отделение всех трех субъединиц G-белка от рецептора. В настоящее время доказано, что как  $\alpha$ -субъединица, так и комплекс  $\beta\gamma$  служат передатчиками сигналов, активируя или ингибируя ферменты и ионные каналы [3]. После взаимодействия с эффектором происходит гидролиз связанного GTP и воссоединение  $\alpha$ -субъединицы с  $\beta\gamma$  в трехсубъединичный комплекс со связанным GDP, способный вновь взаимодействовать с активированным рецептором [4].

Взаимодействие лиганда с рецептором приводит к конформационным изменениям, которые дают начало не только опосредованной G-белками передаче сигнала, но также превращают рецептор

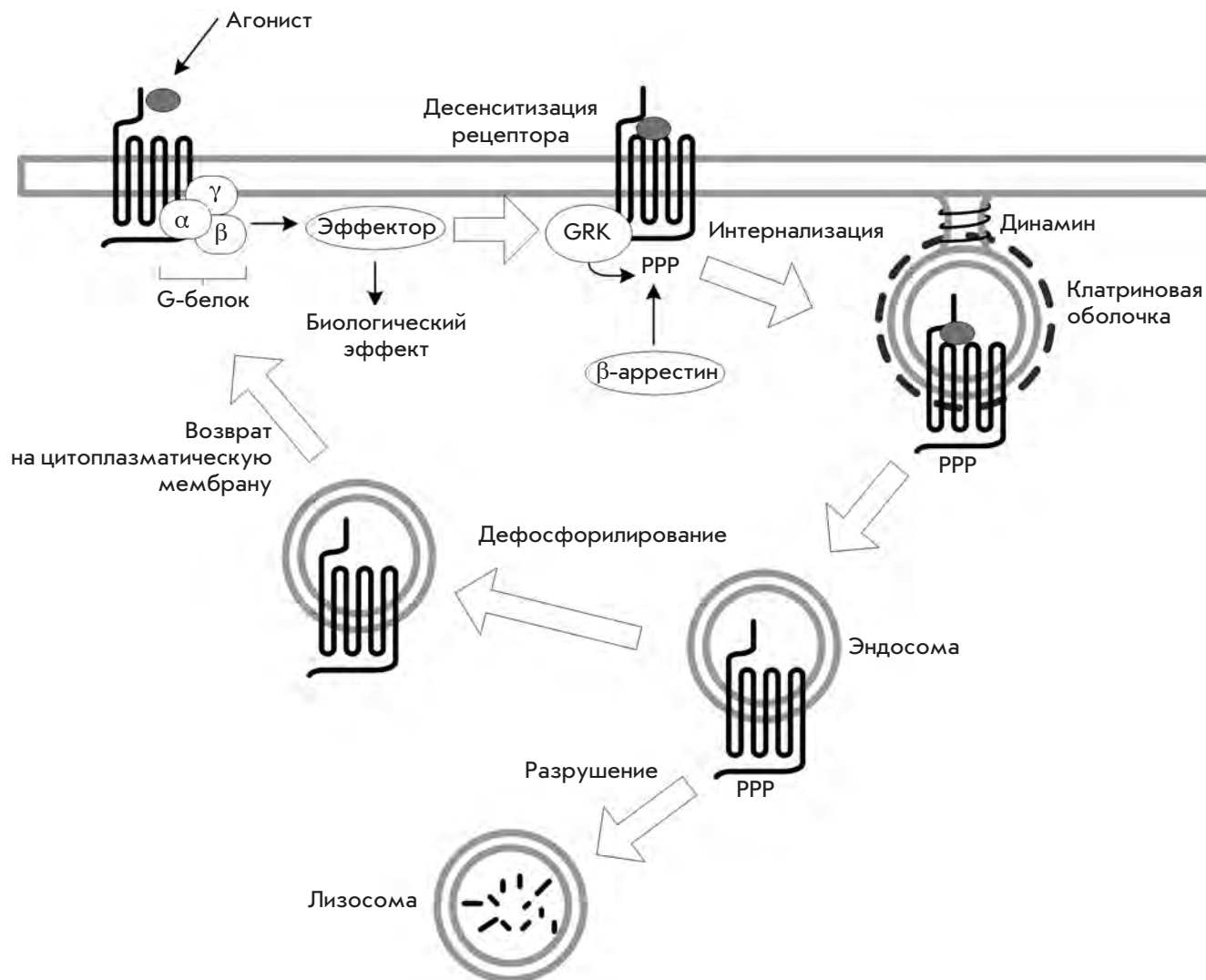


Рис. 1. Схема клатрин-зависимой интернализации рецептора после активации

в субстрат для протеинкиназы GRK (киназы рецепторов, сопряженных с G-белками). Активированный лигандом рецептор фосфорилируется по остаткам серина или треонина, расположенным в цитоплазматической части и/или в третьей цитоплазматической петле. Затем с активированным и фосфорилированным рецептором связываются β-аррестины [5]. β-Аррестины играют существенную роль в процессе интернализации GPCR, так как их связывание приводит к клатрин-зависимому эндоцитозу рецептора за счет взаимодействия с компонентами эндоцитозного механизма – клатрином и адаптерным белковым комплексом AP-2 [6, 7].

Сформировавшиеся покрытые клатрином пузырьки, содержащие рецептор, отсоединяются от цитоплазматической мембраны при помощи белка динамина, стягивающего горлышко формирующихся

пузырьков [8]. Интернализованный комплекс рецептора с лигандом, отделившийся в составе пузырьков, подвергается далее внутриклеточному транспорту. Первая стадия на этом пути – образование ранних эндосом. Считается, что канонические ранние эндосомы содержат малую GTP-азу Rab5 и антиген ранних эндосом EEA1. Во многих случаях интернализованный рецептор все еще остается доступным для молекул внутриклеточного сигнального каскада и, следовательно, может продолжать передавать сигнал так же, как и при локализации на мембране [9]. Далее в зависимости от типа рецептора возможен один из двух вариантов. Рецептор либо избавляется от связанного лиганда и повторно направляется к поверхности клетки (ресенситизация), либо переходит в поздние эндосомы и далее подвергается деградации в лизосомах (рис. 1). Может наблюдаться также смена маршрута

отдельных рецепторов в зависимости от того, была ли активация кратковременной или длительной/повторной [10]. Так, например,  $\beta$ 2-адренорецептор после краткосрочной активации агонистом преимущественно возвращается на цитоплазматическую мембрану (рециклирует), но в результате длительной активации может направляться для деградации в лизосомы, что приведет к уменьшению числа рецепторов на мембране (downregulation) [10].

Возвращение на цитоплазматическую мембрану может происходить как по быстрому маршруту через Rab4-содержащие эндосомы, так и по медленному, через Rab11-содержащие рециклирующие эндосомы [11]. Принято считать, что в поздние эндосомы попадают рецепторы, предназначенные для деградации. Переход от ранних эндосом к поздним сопровождается заменой белка Rab5 белком Rab7 – так называемой «Rab-конверсией» [12].

### МЕХАНИЗМ КЛАТРИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ ИНТЕРНАЛИЗАЦИИ

Клатрин-покрытый пузырек – трехслойная структура, внешний слой которой образован клатрином (клатриновая решетка), внутренний – это липидная мембрана с белковыми включениями, а между ними находятся адаптерные белки. Адаптерные белковые комплексы взаимодействуют непосредственно с липидным бислоем, а клатрин, в свою очередь, связывается с адаптерами [13].

Предполагается, что эндоцитоз начинается с образования на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны «ямки», содержащих клатрин, адаптерный белковый комплекс AP-2 и вспомогательные белки [14]. Субъединицы адаптерного комплекса вызывают образование клатриновой решетки в определенных участках цитоплазматической мембраны и опосредуют взаимодействие клатрина с белком-грузом, предназначенным для эндоцитоза [15]. AP-2 играет важную роль в выборе мишени для эндоцитоза, связываясь либо непосредственно с трансмембранным белком-грузом, содержащим необходимые последовательности, либо через вспомогательные белки, например  $\beta$ -аррестины [16]. Связывание AP-2 с мембраной представляет собой двухступенчатый процесс. Сначала  $\alpha$ -субъединица AP-2 слабо связывается с фосфатидилинозитол-4,5-дифосфатом (PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>). Аффинность AP-2 к соответствующим эндоцитозным мотивам увеличивается при фосфорилировании остатка треонина в  $\mu$ 2-субъединице AP-2 [17] киназой 1, ассоциированной с адаптером [18, 19]. Это фосфорилирование позволяет  $\mu$ 2-субъединице связаться с мотивами эндоцитируемого белка-груза и PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> в мембране, создавая основу для формирования покрытого

клатрином пузырька. Далее с адаптерным комплексом могут связаться другие вспомогательные белки, например CALM, необходимые для образования правильной клатриновой решетки. Удаление этого белка из клетки приводит к формированию крупных несимметричных клатрин-покрытых «ямок» [20]. Одновременно с полимеризацией клатрина в процесс вовлекается множество других белков, требуемых для контроля впячивания цитоплазматической мембраны и образования на ней «ямки». Считается, что искривление мембраны обеспечивается несколькими белками, содержащими BAR-домены (Bin/amphiphysin/Rvs) [21], такими, как амфифизин [22] и эндофилин [23]. Белок эпсин также способен стимулировать искривление мембраны [24]. Полимеризующийся клатрин образует решетку (состоящую из гексагонов и пентагонов) вокруг формирующейся «ямки» и таким образом стабилизирует искривление мембраны [25].

Дальнейшая деформация мембраны и полимеризация клатрина приводят к тому, что клатрин-покрытый пузырек остается связанным с основной частью мембраны только посредством узкого перешейка, и для полного отсоединения пузырька необходима GTP-аза динамин. Амфифизин, уже входящий в состав пузырька, имеет сайты связывания как с клатрином, так и с динамином. Предполагается, что он «привлекает» к формирующемуся пузырьку динамин и облегчает его олигомеризацию [26]. Согласно двум предложенным моделям, после полимеризации динамина вокруг перешейка пузырька изменение его структуры, зависимое от гидролиза GTP, приводит к стягиванию (первая модель) или удлинению (вторая модель) перешейка и отделению пузырька от остальной мембраны [27].

Удаление клатриновой оболочки с поверхности пузырька необходимо для дальнейшего слияния пузырька с целевой мембраной и доставки эндоцитированного «груза» к месту назначения. Основные участники процесса деполимеризации клатриновой оболочки – белки Hsc70 и ауксилилин. Ауксилилин, гомолог Hsp40, связывает клатрин и притягивает Hsc70, который взаимодействует с его J-доменом. В результате взаимодействия с ауксилилином возрастает АТФ-азная активность Hsc70, и он сильнее связывается с клатрином, искажая при этом конформацию и способствуя разборке клатриновой решетки на отдельные молекулы [28, 29]. Слой, образованный адаптерным комплексом, удаляется в результате дефосфорилирования AP-белков фосфатазами, как показано для  $\mu$ 1-субъединицы AP-1 [30]. Белки синаптоянин и эндофилин дефосфорилируют фосфолипиды мембраны, уменьшая таким образом сродство адаптеров к пузырькам [31].

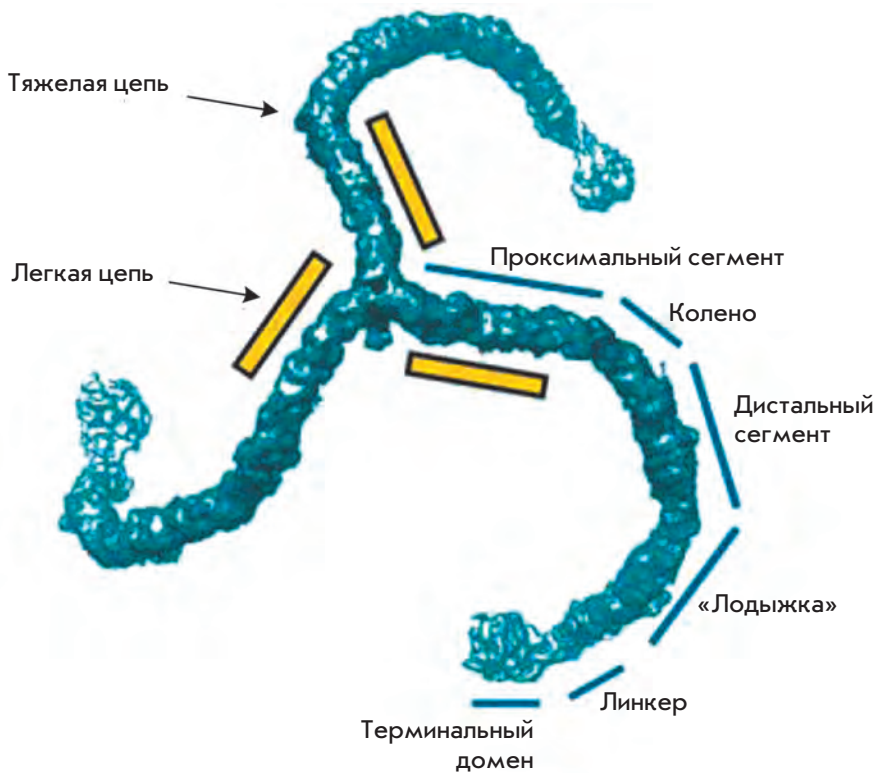


Рис. 2. Молекула клатрина (трискелион). Обозначены сегменты тяжелой цепи клатрина. N-Концевым доменом является терминальный домен, а С-концевые домены располагаются в центре молекулы. Положение легких цепей указано схематично. Рисунок из [40]

## ОСНОВНЫЕ БЕЛКИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В КЛАТРИН-ОПОСРЕДОВАННОМ ЭНДОЦИТОЗЕ

### Киназы рецепторов, сопряженных с G-белками, и β-аррестины

Описано большое количество белков, способных прямо взаимодействовать с GPCR [32]. Однако, кроме G-белков, известно только два класса белков, специфически взаимодействующих с рецепторами, активированными лигандом: протеинкиназы GPCR (GRK) и β-аррестины [33].

Семейство GRK включает продукты семи различных генов. Экспрессия GRK1 и -7 ограничена палочками и колбочками сетчатки соответственно. GRK4 экспрессируется только в мозжечке, семенниках и почках. GRK2, -3, -5 и -6, напротив, широко представлены в тканях млекопитающих. По гомологии аминокислотных последовательностей семь киназ подразделяют на три подсемейства. GRK1 и -7; GRK2 и -3 содержат домен, гомологичный плекстрину, а локализация этих киназ на клеточной мембране зависит от взаимодействия с  $G_{\beta\gamma}$ -субъединицей G-белков и PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>; белки GRK4–6 постоянно ассоциированы с мембраной [34].

К аррестинам относятся четыре белка. Аррестины 1 и 4 (α-аррестин) экспрессируются в палочках и колбочках сетчатки соответственно. Аррестины 2 и 3 (известные так же, как β-аррестины 1 и 2) представлены

во всех тканях [5]. GRK и аррестины управляют активностью GPCR на трех уровнях: (1) сайленсинга – функционального отделения рецептора от его G-белка; (2) регуляции транспорта – удаления рецептора с цитоплазматической мембраны (интернализация), повторного возвращения на мембрану и/или деградации; и (3) проведения сигнала – активации или ингибирования внутриклеточных сигнальных путей независимо от G-белков. N-Концевая часть аррестина 1 [35], а также аррестинов 2 и 3 [36, 37] содержит области, отвечающие за узнавание активированных агонистами фосфорилированных GPCR. Согласно предложенной модели, заряженные фосфатные группы рецептора разрушают полярное ядро аррестина, что в результате приводит к высвобождению его С-концевой части, которая отвечает за связывание с белками эндоцитоза – клатрином и AP-2 [38].

### Клатрин

Клатрином назван основной (мажорный) белок клатрин-покрытых пузырьков, выделенных Пирс [39], поскольку он обладал способностью формировать структуры с упорядоченной сеткой или «клатратами». Молекула клатрина напоминает трискелион (образовано от греч. τρισκελης – трехногий – символического знака, представляющего собой три бегущие ноги, выходящие из одной точки), она состоит из трех тяжелых и трех легких цепей [40] (рис. 2).



Тяжелая цепь клатрина (heavy chain, HC), выделенного из головного мозга крысы, состоит из 1675 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу чуть более 191 кДа (приблизительно 180 кДа по данным денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-ПААГ)). Аминокислотные последовательности тяжелой цепи клатрина из головного мозга человека, крысы и быка высококонсервативны (~99%) [41]. Тяжелые цепи клатрина выделены также из клатрин-покрытых пузырьков дрожжей [42] и растений [43].

Каждая тяжелая цепь клатрина находится в комплексе с одной из легких цепей: LC<sub>a</sub> или LC<sub>b</sub>, кодируемых разными генами. Аминокислотные последовательности легких цепей очень консервативны у разных видов (95–98%). Электрофоретическая подвижность легких цепей, состоящих из 230–250 аминокислотных остатков, в SDS-ПААГ соответствует молекулярной массе приблизительно 30–40 кДа. В легкой цепи выделяют три домена: консервативный C-концевой, центральный  $\alpha$ -спиральный и кислый N-концевой. Гомология обеих цепей на уровне аминокислотных последовательностей достигает 60% [41]. Наибольшей консервативностью характеризуются участок из 22 аминокислотных остатков, расположенный на N-конце молекулы, сайт связывания с тяжелой цепью клатрина, остатки цистеина вблизи C-концевой части, а также обогащенный остатками серина сайт фосфорилирования казеинкиназой II в легкой цепи LC<sub>b</sub> [44]. Легкие цепи связываются с проксимальными доменами тяжелых цепей клатрина [45], основное связывание обеспечивают аминокислотные остатки 1267–1522 тяжелой цепи, остатки 93–160 легкой цепи LC<sub>a</sub> и 90–157 LC<sub>b</sub> [46].

На пересечении тяжелых цепей клатрина находятся области, необходимые для тримеризации тяжелых цепей, связывания легких цепей и образования клатриновой решетки [47, 48]. Домен, обеспечивающий тримеризацию тяжелых цепей, локализован между аминокислотными остатками 1488 и 1587.

Два сайта связывания клатрина с адаптерными белками находятся в N-концевом домене. С первым сайтом взаимодействуют пептиды, содержащие «клатриновый бокс» (L $\phi$ X $\phi$ [D/E], где  $\phi$  – крупная гидрофобная аминокислота). В качестве примера белков, содержащих такой мотив, можно привести  $\beta$ -адаптины (последовательность LLNLD найдена в  $\beta$ -адаптинах 1 и 2, LLDLLD – в  $\beta$ -адаптиве 3),  $\beta$ -аррестины 1 (LIELD) и 2 (LIEFE) и амфифизины 1 и 2 (LLDLLD) [49]. Со вторым сайтом связываются белки, содержащие мотив W-бокс (PWXXW, где X – любая аминокислота), как, например, в молекулах уже упомянутых амфифизинов 1 и 2 [50].



Рис. 3. Модель гексагонального клатринового пузырька (разрешение 7.9 Å). Указаны только тяжелые цепи клатрина. Рисунок из [40]

В слабокислых Ca<sup>2+</sup>-содержащих буферах с низкой ионной силой молекулы клатрина спонтанно самоорганизуются, образуя гетерогенную популяцию замкнутых многогранных структур, напоминающих решетку [51, 52]. Вершина каждого трискелиона располагается в вершине решетки. «Ноги» тяжелых цепей и связанные с ними легкие цепи отходят наружу от вершины, образуя ребра решетки (рис. 3).

Все тяжелые цепи образуют два смежных ребра многогранной решетки. «Ноги», по всей видимости, взаимодействуют через проксимальные и дистальные домены. Каждое ребро состоит из двух антипараллельных проксимальных доменов, под которыми лежат два антипараллельных дистальных домена [53]. Фрагменты клатрина, полученные экспрессией в гетерологичной системе и состоящие из проксимального домена и участка, необходимого для тримеризации, способны самостоятельно формировать тримеры, но не могут образовывать решетки. Для образования клатриновой решетки необходимы дистальные домены, правильно ориентируемые посредством связывания терминальных доменов с адаптерными белками [54]. В решетке терминаль-

ные домены направлены внутрь по направлению к центру и находятся под вершиной, расположенной на расстоянии двух вершин от центра трискелиона. Терминальные домены здесь принимают вид крюков-выступов, обеспечивающих точки контакта с внутренним слоем, образованным адаптерными белками [55].

Интересно, что клатрин участвует не только в эндоцитозе, но и в митозе. Предполагается, что он необходим для стабилизации микротрубочек, крепящихся к кинетохору (так называемые К-пучки) [56].

### Адаптерные белковые комплексы AP

Второй основной белок клатрин-покрытых пузырьков – адаптерный белковый комплекс. Он был открыт благодаря своей способности стимулировать сборку клатриновой решетки в физиологических условиях [57]. Хорошо изучены как минимум два адаптерных комплекса – AP-1 и AP-2. Эти комплексы обладают структурным сходством и состоят из двух различных высокомолекулярных субъединиц с молекулярной массой ~100 кДа (обычно их называют адаптинами), двух субъединиц среднего размера (47–50 кДа) и двух низкомолекулярных субъединиц (17–19 кДа). В комплекс AP-2 входят следующие субъединицы:  $\alpha$  и  $\beta 2$  (или  $\beta$ ) адаптины, субъединица  $\mu 2$  (50 кДа), или AP50 и субъединица  $\sigma 2$  (17 кДа), или AP17. Комплекс AP-1 содержит  $\gamma$  и  $\beta 1$  (или  $\beta'$ ) адаптины, AP47 (или  $\mu 1$ ) и AP19 (или  $\sigma 1$ ) [58].

Обозначение одинаковыми буквами греческого алфавита отражает структурное и, предположительно, функциональное сходство субъединиц комплексов AP-1 и AP-2 [59, 60].  $\alpha$ - и  $\gamma$ -Адаптины различаются наиболее существенно (~30% гомологии аминокислотных последовательностей), в то время как  $\mu$ - и  $\sigma$ -субъединицы комплекса AP-1 в значительной степени (~50%) гомологичны соответствующим  $\mu$ - и  $\sigma$ -субъединицам комплекса AP-2, а  $\beta 1$ - и  $\beta 2$ -адаптины высокогомологичны (> 90%). Известны также комплексы AP-3 и AP-4, сходные по составу субъединиц:  $\delta$  и  $\beta 3$ ,  $\mu 3$ ,  $\sigma 3$  – в комплексе AP-3,  $\epsilon$  и  $\beta 4$ ,  $\mu 4$ ,  $\sigma 4$  – в комплексе AP-4 [61, 62].

Комплекс субъединиц образует структуру, напоминающую голову Микки Мауса (рис. 4), где центр образован субъединицами  $\mu$  и  $\delta$ , а два «уха» состоят из С-концевых доменов двух больших субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$ , соединенных с «головой» гибким перешейком [63].

Хотя сборка клатриновой решетки происходит на мембране, известно, что сам клатрин не имеет сродства к липидам. Поэтому считается, что привлечение клатрина к мембране обеспечивается белками-адаптерами [64, 65].

AP-2 является основным белковым адаптером на цитоплазматической мембране, участвующим

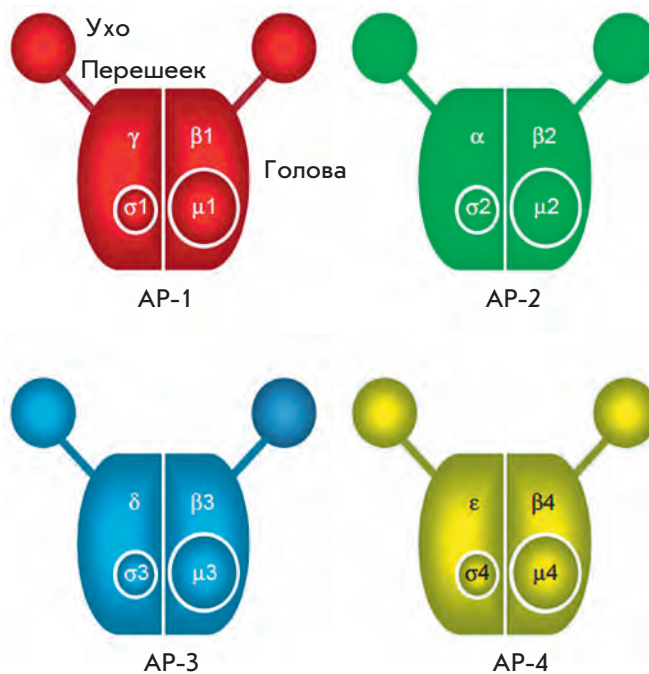


Рис. 4. Схематическое изображение AP-комплексов. Все комплексы состоят из двух больших субъединиц, одной средней и одной малой субъединицы. Рисунок из [63]

в образовании клатрин-покрытых пузырьков при эндоцитозе. С помощью иммуноэлектронной и иммунофлуоресцентной микроскопии показано, что AP-1, -3 и -4 локализуются в эндосомах и комплексе Гольджи [66]. AP-1 опосредует транспорт белков из комплекса Гольджи в ранние или поздние эндосомы.

AP-1 и AP-2 прямо взаимодействуют с N-концевым доменом тяжелой цепи клатрина при помощи сайта связывания с клатрином, который находится в  $\beta$ -цепи. В 1998 г. методом криоэлектронной микроскопии получено представление о структуре комплекса AP-2 с клатрином [55]. Оказалось, что AP-2 образует плотную оболочку в центре решетки. На основании полученных изображений также сделан вывод о том, что AP-2 образует контакты с терминальными доменами клатриновой решетки. Впоследствии рентгеноструктурный анализ подтвердил, что  $\beta$ -субъединицы AP-1, -2 и -3, содержащие клатринсвязывающий мотив, взаимодействуют с терминальным доменом тяжелой цепи клатрина [49].

Комплексы AP взаимодействуют не только с клатрином, но и с интегральными мембранными белками. Последовательность YXX $\Phi$ , расположенная во внутриклеточных доменах многих рецепторов, узнается  $\mu$ -субъединицей всех AP-комплексов [67]. С мотивами [DE]XXXL[LI], которые также находятся в цито-

плазматическом домене рецепторов, связываются β-субъединицы AP-комплексов, причем эти субъединицы проявляют разное сродство к разным мотивам [DE]XXXL[L]. Например, AP-1 и AP-2, но не AP-3, взаимодействуют с сайтами DDQRDLI и NEQLPML [68]. А с сигналами DERAPLI и EEKQPLL взаимодействует AP-3, но не AP-1 и AP-2 [69].

Адаптерные белковые комплексы способны связываться с липидами клеточной мембраны. Описаны два сайта связывания липидов [70]. Первый сайт находится в N-концевой части α-субъединицы AP-2, а второй локализуется на поверхности субъединицы μ2 [71]. Связывание с мембраной определяется взаимодействием фосфатов PtdIns(4,5)P2 и боковых цепей остатков основных аминокислот белка-адаптера.

**Ауксилилин**

Ауксилилин – многодоменный белок с молекулярной массой 100 кДа, содержащий клатринсвязывающий домен, J-домен и область гомологии с фосфоинозитидфосфатазой PTEN (рис. 5А) [72, 73]. N-Концевой домен связывается с производными фосфоинозигола и (PtdIns(4,5)P2) [74, 75]. Центральный домен ауксилилина взаимодействует с клатрином, комплексом AP-2 [76] и динамином [77].

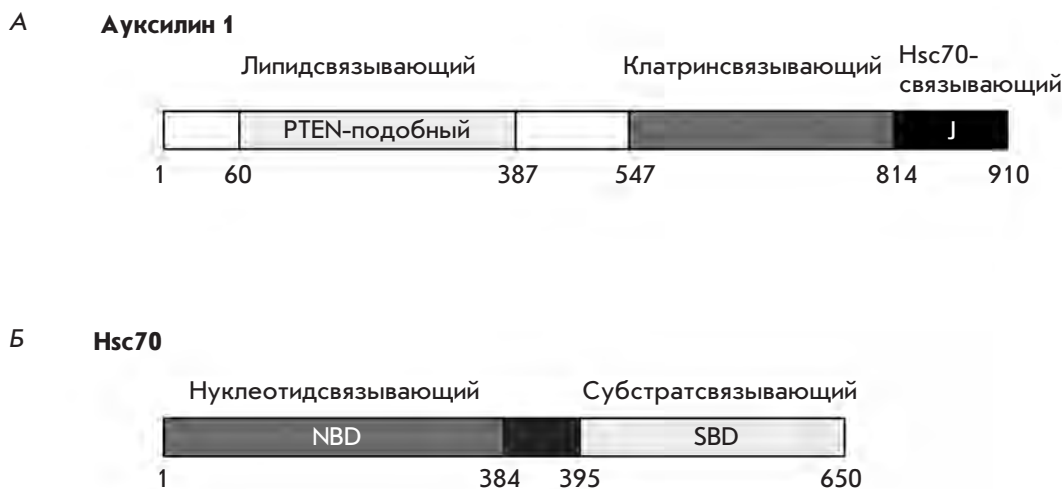
Криоэлектронной микроскопией с разрешением 20 Å получено изображение полноразмерного ауксилилина [78], а также его фрагмента (549–910) [79] с клатриновой решеткой. Ауксилилин формирует оболочку внутри решетки с точками соприкосновения с терминальными доменами клатрина. Ауксилилин способен взаимодействовать с терминальным доменом тяжелой цепи клатрина посредством мотива (LLGLE), включающего аминокислотные остатки 496–500. Оказалось, что фрагмент, содержащий J-домен и клатринсвязывающий домен ауксилилина, контактирует

с двумя «лодыжками» тяжелой цепи клатрина в точке их пересечения и с дальнейшим терминальным доменом. Связывание ауксилилина с клатриновой решеткой приводит к тому, что терминальные домены выворачиваются наружу вследствие изменения положения «лодыжки». Это изменение положения терминальных доменов вызывает глобальные изменения во всей решетке, увеличивая ее диаметр. Считается, что к этим областям, важным для взаимодействия внутри решетки, ауксилилин привлекает Hsc70 [55, 79].

**Hsc70**

Hsc70 – конститутивно экспрессируемый шаперон, участвующий во многих клеточных процессах: фолдинге белков, их деградации и транслокации. Другая интересная функция Hsc70 – способность «демонтировать» клатриновую решетку. Так, добавление Hsc70 и АТР к клатриновым пузырькам *in vitro* вызывает разборку клатриновой решетки [80]. Это стехиометрическая реакция, в которой для диссоциации 1 моль клатриновых трискелионов требуется по 3 моль Hsc70 и АТР [80–82].

Как и всем членам семейства Hsp70, Hsc70 для «работы» с конкретным субстратом требуется белок, содержащий J-домен [83]. В качестве такого белка, связанного с клатрином и содержащего J-домен, выступает ауксилилин. J-домен в молекуле ауксилилина располагается таким образом, что мотив, необходимый для взаимодействия с белком Hsc70, экспонирован наружу от решетки. Необходима также расположенная в С-концевой части тяжелой цепи клатрина последовательность QLMLT (1638–1642) [84] (рис. 5Б). Предложена следующая модель разборки решетки: искривление в месте пересечения «лодыжек», вызванное взаимодействием ауксили-



**Рис. 5.** Доменная организация ауксилилина (А) и Hsc70 (Б). Цифрами обозначены границы различных доменов. Рисунок адаптирован из [85]



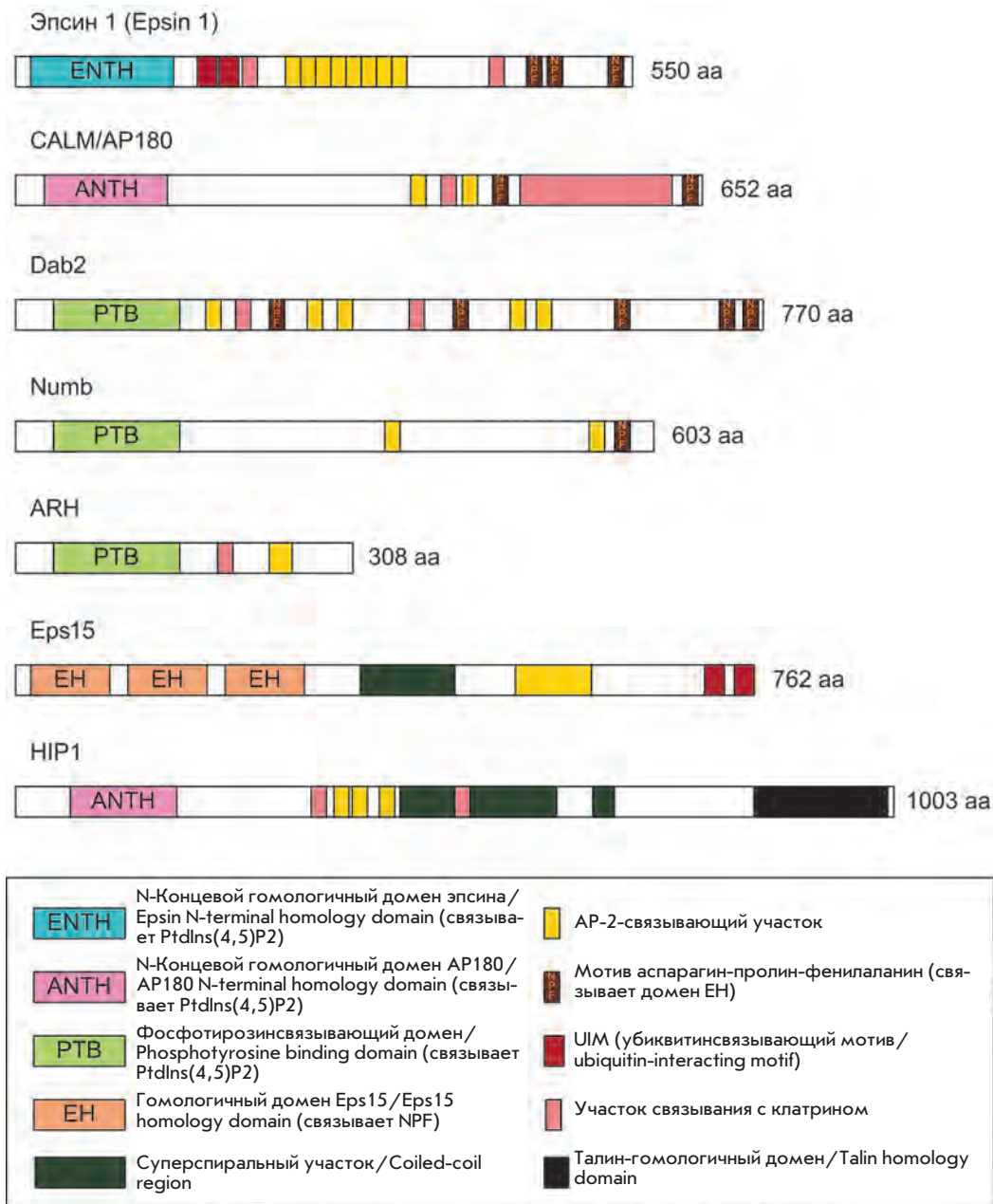


Рис. 6. Мономерные клатринсвязывающие адаптеры. Схематичное представление доменной структуры. aa – аминокислотные остатки. Рисунок адаптирован из [70]

на, позволяет Hsc70 связаться со своим сайтом вблизи С-конца молекулы клатрина. Предполагается, что с одной вершиной трискелиона связывается одна молекула Hsc70, причем для прочного взаимодействия необходим гидролиз АТФ. Таким образом, усиливается деформация клатриновой решетки, которая началась после связывания ауксина [85].

**Другие белки, взаимодействующие с клатрином**

Помимо адаптерного комплекса AP-2 клатрин-покрытые пузырьки содержат и другие белки. Найдены многие мономерные адаптеры, связывающие

клатрин, а также способные взаимодействовать с интегральными мембранными белками, PtdIns(4,5)P2 и AP-2, для обеспечения клатрин-зависимого эндоцитоза трансмембранных белков (рис. 6). В качестве примера таких адаптеров можно привести эпсины, белок CALM/AP180, а также HIP1 и HIP1R. Содержащийся в этих белках N-концевой домен, связывающий PtdIns(4,5)P2, называется ENTH (epsin N-terminal homology) или ANTH (AP180 N-terminal homology domain). Другая группа мономерных белков включает Dab2, ARH и Numb. Эти белки связывают AP-2, а некоторые из них взаимодействуют



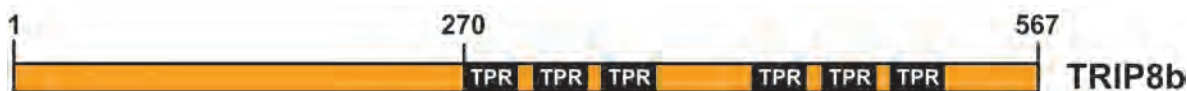


Рис. 7. Схематическое представление доменной организации белка TRIP8b

и с клатрином. Все они содержат фосфотирозинсвязывающий домен (РТВ), отвечающий за взаимодействие с липидами мембраны и за узнавание мотива FXNPXY, локализованного в цитоплазматической части рецепторов LDLR. Показано, что фосфорилирование тирозина в этом мотиве не является условием, необходимым для связывания мономерных адаптеров [71].

Кроме связывания с липидами клеточной мембраны адаптеры узнают сигналы, локализованные в цитоплазматической части рецепторов. Это могут быть посттрансляционные модификации (фосфорилирование, убиквитинирование), короткие пептидные мотивы или и то и другое [86]. Предполагается, что связывание адаптера с цитоплазматической мембраной стабилизируется при одновременном взаимодействии адаптера с PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> и рецептором [70, 87].

Функция всех упомянутых белков-адаптеров изучена слабо. Возможно, использование разных белков позволяет избежать одновременного накопления различных GPCR в одном и том же клатрин-покрытом пузырьке [88].

Наиболее изученная роль адаптеров заключается в специфичном узнавании рецептора для его последующего удаления с мембраны. Это узнавание приводит к нарушению поступления рецептора к активному его лиганду, а часто и к перемещению рецептора в лизосомы для деградации. Интернализация рецептора с участием определенного адаптера также может привести к тому, что рецептор будет направлен в другой клеточный компартмент со своим набором сигнальных молекул [89]. Другим следствием избирательного удаления рецептора с поверхности клетки может быть такое клеточное развитие, при котором одна из дочерних клеток получает отличающийся набор адаптеров, отвечающих за эндоцитоз определенных рецепторов. Например, при развитии органов чувств дрозофилы адаптер Numb переходит только в одну из двух дочерних клеток. Numb отвечает за корректировку развития клетки, в которой он оказался, путем ингибирования передачи сигнала по Notch-пути. Ингибирование происходит за счет эндоцитоза рецептора, однако не ясно, контролирует ли белок Numb эндоцитоз Notch пря-

мо или через трансмембранный регулятор Notch – Sandopo [90, 91].

Как уже упоминалось, белки Numb, Dab2 и ARH содержат домен, специфически узнающий последовательность FXNPXY в цитоплазматической части рецепторов. Показано, что белки ARH и Dab2 участвуют в эндоцитозе рецептора LDL, а белок Numb регулирует эндоцитоз интегральных мембранных белков, включая рецепторы EGFR и Notch [88].

Белок эпсин участвует в клатрин-опосредованном эндоцитозе в клетках млекопитающих, где он играет важную роль в изгибании цитоплазматической мембраны за счет домена ENTH. При этом С-концевая часть белка связывается с компонентами клатриновой оболочки (N-концевым доменом клатрина, AP-2 и EN-доменом белка Eps15), что приводит к сборке клатриновой решетки. Посредством UIM-повторов эпсин способен узнавать убиквитинированный «груз», в частности трансмембранные белки, действуя как адаптерный белок [88, 92].

Белки AP180 и CALM облегчают сборку клатрин-покрытых пузырьков и регулируют их размер [20, 93, 94]. Предполагается, что AP180 и CALM играют важную роль в обеспечении полярности и контроле роста аксонов и дендритов нейронов гиппокампа [95].

#### **TRIP8b – новый клатринсвязывающий белок и потенциальный адаптер эндоцитоза**

TRIP8b (TPR-containing Rab8b interacting protein, взаимодействующий с Rab8b белок с доменом TPR) – один из недавно обнаруженных белков, потенциальных адаптеров эндоцитоза, вовлеченных в его регуляцию. Экспрессирующийся преимущественно в головном мозге TRIP8b идентифицировали сначала как белок, взаимодействующий с малой GTP-азой Rab8b [96]. В С-концевой части TRIP8b находятся шесть TPR-мотивов, которые образуют TPR-домен (рис. 7). TPR-мотивы представляют собой повторы, состоящие из 34 аминокислот. Эти мотивы встречаются во многих белках, они вовлечены в белок-белковые взаимодействия [97]. Данные повторы часто расположены друг за другом, в результате чего образуется пространственная структура из двух антипараллельных  $\alpha$ -спиралей, соединенных короткой петлей [98]. N-Концевая часть TRIP8b не содержит гомологичных

последовательностей с другими известными белками и подвергается альтернативному сплайсингу [99].

Известно, что TRIP8b на 40% идентичен белку Pex5 (peroxin protein, пероксин 5), а их С-концевые части, содержащие TPR-домены, идентичны на 57% (другое название TRIP8b – Pex5Rp, Pex5p related protein, белок, родственник Pex5p) [100]. Белок Pex5 найден у многих организмов, начиная с дрожжей и заканчивая млекопитающими, он отвечает за узнавание и импорт пероксисомных белков, содержащих С-концевой мотив SKL (peroxisome-targeting signal type 1, PTS1), из цитоплазмы в пероксисомы. Но, как оказалось, TRIP8b, хотя и узнает последовательность PTS1, в процессе импорта в пероксисомы не участвует [100].

TRIP8b взаимодействует с белком Rab8b, а также непосредственно с белком, образующим HCN-канал (Hyperpolarization-activated, Cyclic Nucleotide-regulated channel, активируемый гиперполяризацией канал, регулируемый циклонуклеотидами) [99, 101]. Обнаружено, что TRIP8b связывается с рецептором C1RL1 [102], который принадлежит к классу GPCR, и трансмембранным белком Caspr [103].

Каналы HCN входят в семейство потенциал-зависимых каналов [104–106]. Эти каналы вовлечены в управление работой пейсмейкеров сердца и мозга, обеспечение мембранного потенциала покоя, синаптическую передачу (см. обзоры [107] и [108]). Изучение взаимодействия TRIP8b с каналом HCN показало, что TRIP8b регулирует функции и поверхностную экспрессию канала [99, 101, 109, 110]. Предполагается, что TRIP8b действует как вспомогательный адаптер для HCN, причем взаимодействие обеспечивается как минимум двумя разными участками в молекулах TRIP8b и HCN [111, 112].

Все ранее обнаруженные взаимодействия TRIP8b с другими белками опосредовались TPR-доменами, локализованными в С-концевой части TRIP8b [96, 99, 100], или участком, расположенным в консервативной центральной части белка [109, 111, 112].

Как уже упоминалось, N-концевая часть TRIP8b подвергается альтернативному сплайсингу. Образующиеся в результате сплайсинга формы белка по-разному влияют на транспорт HCN и его локализацию на цитоплазматической мембране: одни формы усиливают поверхностную экспрессию HCN1, а другие – уменьшают [109, 110]. Обнаружено, что TRIP8b взаимодействует с клатрином, причем в этом взаимодействии участвует N-концевая часть белка TRIP8b [103, 113]. Сайт связывания с клатрином в молекуле TRIP8b представляет собой два коротких мотива, напоминающих мотив «клатринового бокса».

Для изучения функций TRIP8b получены два типа нокаутных мышей. Фенотип мышей, у которых отсутствуют некоторые изоформы TRIP8b, был таким же, как у мышей дикого типа [114]. При полном отсутствии белка (TRIP8b<sup>-/-</sup>) у мышей наблюдалось нарушение моторного научения и повышение устойчивости в тесте поведенческого отчаяния [115].

Необходимость изучения клатрин-зависимого эндоцитоза не вызывает сомнений. Большой интерес вызывают интернализация рецепторов после активации лигандом, а также функции различных вспомогательных белков. В настоящее время активно исследуются взаимодействия клатрина с многочисленными белками-адаптерами. Клатрин участвует в различных процессах: эндоцитозе, внутриклеточном трафике, сегрегации хромосом. Предполагается, что нарушения функционирования клатрина могут приводить к развитию некоторых заболеваний. В связи с этим изучение структуры и функций клатрин-покрытых пузырьков, а также белков, участвующих в образовании этих пузырьков, представляет интерес как для молекулярной биологии, так и для биомедицины. ●

*Работа поддержана РФФИ  
(гранты № 11-04-12151-офи-м-2011, 12-04-01817-а,  
12-04-32099 мол\_а).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pierce K.L., Premont R.T., Lefkowitz R.J. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2002. V. 3. P. 639–650.
- Ovchinnikov Yu.A. // FEBS Lett. 1982. V. 148. P. 179–191.
- Clapham D.E., Neer E.J. // Nature. 1993. V. 365. P. 403–406.
- Oldham W.M., Hamm H.E. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2008. V. 9. P. 60–71.
- Shenoy S.K., Lefkowitz R.J. // Biochem. J. 2003. V. 375. P. 503–515.
- Goodman O.B., Jr., Krupnick J.G., Santini F., Gurevich V.V., Penn R.B., Gagnon A.W., Keen J.H., Benovic J.L. // Nature. 1996. V. 383. P. 447–450.
- Laporte S.A., Oakley R.H., Zhang J., Holt J.A., Ferguson S.S., Caron M.G., Barak L.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 3712–3717.
- Doherty G.J., McMahon H.T. // Annu. Rev. Biochem. 2009. V. 78. P. 857–902.
- Calebiro D., Nikolaev V.O., Persani L., Lohse M.J. // Trends Pharmacol. Sci. 2010. V. 31. P. 221–228.
- Hanyaloglu A.C., von Zastrow M. // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2008. V. 48. P. 537–568.
- Stenmark H. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2009. V. 10. P. 513–525.
- Poteryaev D., Datta S., Ackema K., Zerial M., Spang A. // Cell. 2010. V. 141. P. 497–508.
- Young A. // Semin. Cell. Dev. Biol. 2007. V. 18. P. 448–458.

14. Ehrlich M., Boll W., van Oijen A., Hariharan R., Chandran K., Nibert M.L., Kirchhausen T. // *Cell*. 2004. V. 118. P. 591–605.
15. Ohno H., Stewart J., Fournier M.C., Bosshart H., Rhee I., Miyatake S., Saito T., Gallusser A., Kirchhausen T., Bonifacino J.S. // *Science*. 1995. V. 269. P. 1872–1875.
16. Edeling M.A., Mishra S.K., Keyel P.A., Steinhauser A.L., Collins B.M., Roth R., Heuser J.E., Owen D.J., Traub L.M. // *Dev. Cell*. 2006. V. 10. P. 329–342.
17. Honing S., Ricotta D., Krauss M., Spate K., Spolaore B., Motley A., Robinson M., Robinson C., Haucke V., Owen D.J. // *Mol. Cell*. 2005. V. 18. P. 519–531.
18. Lauritsen J.P., Menne C., Kastrop J., Dietrich J., Odum N., Geisler C. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2000. V. 1497. P. 297–307.
19. Ricotta D., Conner S.D., Schmid S.L., von Figura K., Honing S. // *J. Cell. Biol.* 2002. V. 156. P. 791–795.
20. Meyerholz A., Hinrichsen L., Groos S., Esk P.C., Brandes G., Ungewickell E.J. // *Traffic*. 2005. V. 6. P. 1225–1234.
21. Blood P.D., Voth G.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 15068–15072.
22. Takei K., Slepnev V.I., Haucke V., De Camilli P. // *Nat. Cell. Biol.* 1999. V. 1. P. 33–39.
23. Farsad K., Ringstad N., Takei K., Floyd S.R., Rose K., De Camilli P. // *J. Cell. Biol.* 2001. V. 155. P. 193–200.
24. Castillo P.E., Schoch S., Schmitz F., Sudhof T.C., Malenka R.C. // *Nature*. 2002. V. 415. P. 327–330.
25. McMahon H.T., Boucrot E. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2011. V. 12. P. 517–533.
26. Yoshida Y., Kinuta M., Abe T., Liang S., Araki K., Cremona O., Di Paolo G., Moriyama Y., Yasuda T., De Camilli P., et al. // *EMBO J.* 2004. V. 23. P. 3483–3491.
27. Ferguson S.M., De Camilli P. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2012. V. 13. P. 75–88.
28. Barouch W., Prasad K., Greene L., Eisenberg E. // *Biochemistry (Mosc.)*. 1997. V. 36. P. 4303–4308.
29. Ungewickell E., Ungewickell H., Holstein S.E., Lindner R., Prasad K., Barouch W., Martin B., Greene L.E., Eisenberg E. // *Nature*. 1995. V. 378. P. 632–635.
30. Ghosh P., Kornfeld S. // *J. Cell. Biol.* 2003. V. 160. P. 699–708.
31. Verstreken P., Koh T.W., Schulte K.L., Zhai R.G., Hiesinger P.R., Zhou Y., Mehta S.Q., Cao Y., Roos J., Bellen H.J. // *Neuron*. 2003. V. 40. P. 733–748.
32. Bockaert J., Fagni L., Dumuis A., Marin P. // *Pharmacol Ther.* 2004. V. 103. P. 203–221.
33. Lefkowitz R.J., Shenoy S.K. // *Science*. 2005. V. 308. P. 512–517.
34. Pitcher J.A., Freedman N.J., Lefkowitz R.J. // *Annu. Rev. Biochem.* 1998. V. 67. P. 653–692.
35. Gurevich V.V., Benovic J.L. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 11628–11638.
36. Gurevich V.V., Richardson R.M., Kim C.M., Hosey M.M., Benovic J.L. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 16879–16882.
37. Gurevich V.V., Dion S.B., Onorato J.J., Ptasiński J., Kim C.M., Sterne-Marr R., Hosey M.M., Benovic J.L. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 720–731.
38. Gurevich V.V., Gurevich E.V. // *Pharmacol. Ther.* 2006. V. 110. P. 465–502.
39. Pearse B.M. // *J. Mol. Biol.* 1975. V. 97. P. 93–98.
40. Fotin A., Cheng Y., Sliz P., Grigorieff N., Harrison S.C., Kirchhausen T., Walz T. // *Nature*. 2004. V. 432. P. 573–579.
41. Keen J.H. // *Annu. Rev. Biochem.* 1990. V. 59. P. 415–438.
42. Mueller S.C., Branton D. // *J. Cell. Biol.* 1984. V. 98. P. 341–346.
43. Wiedenhoef R.E., Schmidt G.W., Palevitz B.A. // *Plant Physiol.* 1988. V. 86. P. 412–416.
44. Jackson A.P., Parham P. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 16688–16695.
45. Ungewickell E. // *EMBO J.* 1983. V. 2. P. 1401–1408.
46. Chen C.Y., Reese M.L., Hwang P.K., Ota N., Agard D., Brodsky F.M. // *EMBO J.* 2002. V. 21. P. 6072–6082.
47. Blank G.S., Brodsky F.M. // *EMBO J.* 1986. V. 5. P. 2087–2095.
48. Blank G.S., Brodsky F.M. // *J. Cell. Biol.* 1987. V. 105. P. 2011–2019.
49. ter Haar E., Harrison S.C., Kirchhausen T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. V. 97. P. 1096–1100.
50. Ramjaun A.R., McPherson P.S. // *J. Neurochem.* 1998. V. 70. P. 2369–2376.
51. Crowther R.A., Finch J.T., Pearse B.M. // *J. Mol. Biol.* 1976. V. 103. P. 785–798.
52. Kartenbeck J. // *Cell Biol. Int. Rep.* 1978. V. 2. P. 457–464.
53. Wakeham D.E., Chen C.Y., Greene B., Hwang P.K., Brodsky F.M. // *EMBO J.* 2003. V. 22. P. 4980–4990.
54. Greene B., Liu S.H., Wilde A., Brodsky F.M. // *Traffic*. 2000. V. 1. P. 69–75.
55. Smith C.J., Grigorieff N., Pearse B.M. // *EMBO J.* 1998. V. 17. P. 4943–4953.
56. Royle S.J. // *J. Cell. Sci.* 2012. V. 125. P. 19–28.
57. Keen J.H., Willingham M.C., Pastan I.H. // *Cell*. 1979. V. 16. P. 303–312.
58. Schmid S.L. // *Annu. Rev. Biochem.* 1997. V. 66. P. 511–548.
59. Gallusser A., Kirchhausen T. // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 5237–5244.
60. Stepp J.D., Pellicena-Palle A., Hamilton S., Kirchhausen T., Lemmon S.K. // *Mol. Biol. Cell*. 1995. V. 6. P. 41–58.
61. Simpson F., Peden A.A., Christopoulou L., Robinson M.S. // *J. Cell. Biol.* 1997. V. 137. P. 835–845.
62. Dell'Angelica E.C., Mullins C., Bonifacino J.S. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 7278–7285.
63. Robinson M.S., Bonifacino J.S. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2001. V. 13. P. 444–453.
64. Aridor M., Traub L.M. // *Traffic*. 2002. V. 3. P. 537–546.
65. Wilbur J.D., Hwang P.K., Brodsky F.M. // *Traffic*. 2005. V. 6. P. 346–350.
66. Peden A.A., Oorschot V., Hesser B.A., Austin C.D., Scheller R.H., Klumperman J. // *J. Cell. Biol.* 2004. V. 164. P. 1065–1076.
67. Bonifacino J.S., Traub L.M. // *Annu. Rev. Biochem.* 2003. V. 72. P. 395–447.
68. Hofmann M.W., Honing S., Rodionov D., Dobberstein B., von Figura K., Bakke O. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 36153–36158.
69. Honing S., Sandoval I.V., von Figura K. // *EMBO J.* 1998. V. 17. P. 1304–1314.
70. Maldonado-Baez L., Wendland B. // *Trends Cell Biol.* 2006. V. 16. P. 505–513.
71. Owen D.J., Collins B.M., Evans P.R. // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2004. V. 20. P. 153–191.
72. Ahle S., Ungewickell E. // *J. Cell. Biol.* 1990. V. 111. P. 19–29.
73. Ungewickell E., Ungewickell H., Holstein S.E. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 19594–19600.
74. Lee D.W., Wu X., Eisenberg E., Greene L.E. // *J. Cell Sci.* 2006. V. 119. P. 3502–3512.
75. Massol R.H., Boll W., Griffin A.M., Kirchhausen T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 10265–10270.
76. Scheele U., Kalthoff C., Ungewickell E. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 36131–36138.
77. Newmyer S.L., Christensen A., Sever S. // *Dev. Cell*. 2003. V. 4. P. 929–940.
78. Smith C.J., Dafforn T.R., Kent H., Sims C.A., Khubchandani-Aswani K., Zhang L., Saibil H.R., Pearse B.M. // *J. Mol. Biol.* 2004. V. 336. P. 461–471.
79. Fotin A., Cheng Y., Grigorieff N., Walz T., Harrison S.C., Kirchhausen T. // *Nature*. 2004. V. 432. P. 649–653.

80. Greene L.E., Eisenberg E. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 6682–6687.
81. Barouch W., Prasad K., Greene L.E., Eisenberg E. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 28563–28568.
82. Ma Y., Greener T., Pacold M.E., Kaushal S., Greene L.E., Eisenberg E. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 49267–49274.
83. Hartl F.U., Hayer-Hartl M. // *Science.* 2002. V. 295. P. 1852–1858.
84. Rapoport I., Boll W., Yu A., Bocking T., Kirchhausen T. // *Mol. Biol. Cell.* 2008. V. 19. P. 405–413.
85. Xing Y., Bocking T., Wolf M., Grigorieff N., Kirchhausen T., Harrison S.C. // *EMBO J.* 2010. V. 29. P. 655–665.
86. Robinson M.S. // *Trends Cell Biol.* 2004. V. 14. P. 167–174.
87. Aguilar R.C., Watson H.A., Wendland B. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 10737–10743.
88. Wolfe B.L., Trejo J. // *Traffic.* 2007. V. 8. P. 462–470.
89. Polo S., Di Fiore P.P. // *Cell.* 2006. V. 124. P. 897–900.
90. Le Borgne R. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2006. V. 18. P. 213–222.
91. Hutterer A., Knoblich J.A. // *EMBO Rep.* 2005. V. 6. P. 836–842.
92. Horvath C.A., Vanden Broeck D., Boulet G.A., Bogers J., De Wolf M.J. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2007. V. 39. P. 1765–1770.
93. Morgan J.R., Zhao X., Womack M., Prasad K., Augustine G.J., Lafer E.M. // *J. Neurosci.* 1999. V. 19. P. 10201–10212.
94. Zhang B., Koh Y.H., Beckstead R.B., Budnik V., Ganetzky B., Bellen H.J. // *Neuron.* 1998. V. 21. P. 1465–1475.
95. Bushlin I., Petralia R.S., Wu F., Harel A., Mughal M.R., Mattson M.P., Yao P.J. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. P. 10257–10271.
96. Chen S., Liang M.C., Chia J.N., Ngsee J.K., Ting A.E. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 13209–13216.
97. Blatch G.L., Lassle M. // *Bioessays.* 1999. V. 21. P. 932–939.
98. D'Andrea L.D., Regan L. // *Trends Biochem. Sci.* 2003. V. 28. P. 655–662.
99. Santoro B., Wainger B.J., Siegelbaum S.A. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 10750–10762.
100. Amery L., Sano H., Mannaerts G.P., Snider J., van Looy J., Fransen M., van Veldhoven P.P. // *Biochem. J.* 2001. V. 357. P. 635–646.
101. Zolles G., Wenzel D., Bildl W., Schulte U., Hofmann A., Muller C.S., Thumfart J.O., Vlachos A., Deller T., Pfeifer A., et al. // *Neuron.* 2009. V. 62. P. 814–825.
102. Popova N.V., Plotnikov A., Deev I.E., Petrenko A.G. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2007. V. 414. P. 149–151.
103. Popova N.V., Plotnikov A.N., Ziganshin R., Deyev I.E., Petrenko A.G. // *Biochemistry (Mosc.)* 2008. V. 73. P. 644–651.
104. Santoro B., Grant S.G., Bartsch D., Kandel E.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. P. 14815–14820.
105. Ludwig A., Zong X., Jeglitsch M., Hofmann F., Biel M. // *Nature.* 1998. V. 393. P. 587–591.
106. Santoro B., Liu D.T., Yao H., Bartsch D., Kandel E.R., Siegelbaum S.A., Tibbs G.R. // *Cell.* 1998. V. 93. P. 717–729.
107. DiFrancesco D. // *Annu. Rev. Physiol.* 1993. V. 55. P. 455–472.
108. Robinson R.B., Siegelbaum S.A. // *Annu. Rev. Physiol.* 2003. V. 65. P. 453–480.
109. Lewis A.S., Schwartz E., Chan C.S., Noam Y., Shin M., Wadman W.J., Surmeier D.J., Baram T.Z., Macdonald R.L., Chetkovich D.M. // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 6250–6265.
110. Santoro B., Piskorowski R.A., Pian P., Hu L., Liu H., Siegelbaum S.A. // *Neuron.* 2009. V. 62. P. 802–813.
111. Han Y., Noam Y., Lewis A.S., Gallagher J.J., Wadman W.J., Baram T.Z., Chetkovich D.M. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. P. 20823–20834.
112. Santoro B., Hu L., Liu H., Saponaro A., Pian P., Piskorowski R.A., Moroni A., Siegelbaum S.A. // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. P. 4074–4086.
113. Popova N.V., Deyev I.E., Petrenko A.G. // *J. Neurochem.* 2011. V. 118. P. 988–998.
114. Piskorowski R., Santoro B., Siegelbaum S.A. // *Neuron.* 2011. V. 70. P. 495–509.
115. Lewis A.S., Vaidya S.P., Blaiss C.A., Liu Z., Stoub T.R., Brager D.H., Chen X., Bender R.A., Estep C.M., Popov A.B., et al. // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. P. 7424–7440.