

УДК 577.352.465

Новый модулятор активности STIM2-зависимых депо-управляемых кальциевых каналов

А. Ю. Скопин¹, А. Д. Григорьев¹, Л. Н. Глушанкова¹, А. В. Шалыгин¹, Г. Ванг², В. Г. Карцев³, Е. В. Казначеева^{1*}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Университет Сучжоу Колледж фармакологических наук, Сучжоу, Цзянсу, 215123 Китай

³ИнтерБиоСкрин (InterBioScreen Ltd.), Черноголовка, 142432 Россия

*E-mail: evkazn@incras.ru

Поступила в редакцию 25.11.2020

Принята к печати 24.12.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11269

РЕФЕРАТ Депо-зависимый вход кальция – один из основных путей поступления кальция в электронеозбудимые клетки, вызывающий запуск множества внутриклеточных сигнальных каскадов. Белки семейства STIM (STIM1 и STIM2), ключевые в данном процессе, являются сенсорами кальция во внутриклеточных кальциевых депо, активирующими депо-управляемые каналы плазматической мембраны при снижении концентрации кальция. В физиологических условиях белки STIM1 и STIM2 управляют различными депо-зависимыми ионными каналами плазматической мембраны. Селективные модуляторы активности белков STIM на данный момент отсутствуют, а инструментарий по разграничению их активности в условиях эксперимента недостаточен. В результате скрининга библиотеки низкомолекулярных соединений нами обнаружено вещество 4-MPTC, селективно подавляющее STIM2-зависимый депо-управляемый вход кальция ($IC_{50} = 1$ мкМ), но практически не влияющее на STIM1-зависимый механизм активации депо-управляемых каналов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА кальций, депо-управляемый вход, STIM1, STIM2, 2-APB, Orai.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 2-APB – 2-аминоэтоксидифенилборат; 4-MPTC – 4-метил-2-(2-пропилпиридин)-N-(пиридин)-тиазол-5-карбоксамид; CC1 – домен coiled-coil 1; DMSO – диметилсульфоксид; STIM – молекула стромального взаимодействия; SOAR – STIM-ORAI-активирующий домен; Tg – тапсигаргин.

ВВЕДЕНИЕ

Повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме – один из общих ответов клетки на внеклеточную стимуляцию мембранных рецепторов физиологически активными веществами, запускающими широкий спектр внутриклеточных каскадов. В физиологических условиях кальциевый ответ клетки на агонист включает в себя не только вход внеклеточного кальция в клетку, но и опустошение внутриклеточных депо, расположенных в эндоплазматическом ретикулуме [1]. Вход кальция в клетку через каналы плазматической мембраны в ответ на опустошение внутриклеточных депо или депо-управляемый вход кальция [2] обеспечивает существенную часть притока ионов кальция. Запускают этот вход белки STIM (STIM1 и STIM2) – сенсоры кальция в просвете эндоплазматического ретикулума. Первым был охарактеризован белок STIM1, основной активатор депо-управляемого входа [3, 4].

Белки STIM1 и STIM2 различаются сродством к ионам кальция и способностью к взаимодействию с каналами плазматической мембраны [5]. STIM2 более чувствителен к малым изменениям концентрации кальция в депо и является более слабым активатором депо-управляемого входа, чем STIM1. Вероятнее всего, STIM1 отвечает за кальциевый ответ клетки при поступлении внеклеточного сигнала, а STIM2 регулирует базальный уровень концентрации кальция в депо и цитозоле [6]. Кроме того, STIM2 способствует переходу STIM1 в активное состояние [7]. В физиологических условиях STIM1 и STIM2 активируют в клетке различные депо-управляемые каналы [8], которые сформированы белками семейств Orai [9, 10] и TRP [11–13]. Белки STIM вовлечены в широкий спектр патологических процессов. Например, при болезни Хантингтона [14, 15], болезни Альцгеймера [16, 17], церебральной ишемии [18] и черепно-мозговых травмах [19, 20] на фоне увеличенной активности

белков STIM наблюдается долговременное повышение концентрации кальция в нейронах, приводящее к клеточной гибели. Изменение уровней экспрессии STIM характерно для нескольких типов рака молочной железы [21], карциномы толстой кишки [22]. Таким образом, изменение активности белков STIM, в частности, уменьшение активности STIM2, может вызывать потенциальный терапевтический эффект. В фундаментальных исследованиях модулятор активности белков STIM2 востребован как инструмент, дающий возможность разделить STIM1- и STIM2-зависимые сигнальные пути, поскольку подобные фармакологические инструменты на данный момент отсутствуют.

Исследователи активно применяют широкий спектр блокаторов депо-управляемого входа, большинство из них модулируют активность депо-зависимых каналов, но эти соединения зачастую недостаточно охарактеризованы и имеют несколько мишеней. Одно из наиболее часто применимых соединений 2-аминоэтоксидифенилборат (2-APB) впервые было охарактеризовано как блокатор IP_3 -индуцированного выброса кальция [23]. В настоящее время оно широко применяется как блокатор депо-управляемого входа при концентрациях более 50 мкМ. Кроме того, показано, что 2-APB в концентрации 5 мкМ может потенцировать депо-управляемый вход [24]. Механизм действия 2-APB не до конца изучен, известно, что это соединение действует на несколько мишеней и, в том числе, оказывает модулирующий эффект на активность различных каналов, например, образованных белками семейства TRPV [25, 26] и Orai3 [27]. 2-APB увеличивает также неспецифическую утечку кальция из просвета эндоплазматического ретикулума [28].

При заполненном кальцием депо эндоплазматического ретикулума белки STIM находятся в неактивной конформации, которая стабилизируется взаимодействием доменов CC1 (Coiled-Coil 1) и SOAR (STIM-Orai Activating Region). При опустошении депо белки STIM мульимеризуются, меняют свою конформацию и открывают домен SOAR для взаимодействия с каналами плазматической мембраны [29]. Известно, что соединение 2-APB в концентрациях порядка 10 мкМ вызывает депо-независимый вход кальция, переводя структуру белка STIM2 в активную конформацию [30]. Соединение 2-APB в большей концентрации (50 мкМ), напротив, стабилизирует белок STIM1 в неактивной конформации за счет усиления взаимодействия между доменами CC1 и SOAR и, тем самым, затрудняет взаимодействие домена SOAR с каналами Orai1 и их активацию. Любопытно, что повышение экспрессии Orai1 этот эффект частично нивелирует [31].

Таким образом, соединение 2-APB непосредственно взаимодействует с белками STIM, а значит, является хорошей основой для поиска более селективного модулятора депо-управляемого входа кальция. В данной работе с целью выявления селективного модулятора белка STIM2 протестирована библиотека из 250 химических соединений, полученных от компании InterBioScreen Ltd. и обладающих схожей с 2-APB химической структурой. Обнаружено, что вещество 4-MPTC подавляет STIM2-зависимый вход кальция ($IC_{50} = 1$ мкМ), но практически не влияет на STIM1-зависимый механизм активации депо-управляемых каналов. Остальные 249 соединений из данной библиотеки оказывали разнонаправленный и неселективный эффект.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Клеточные линии

В работе использовали модельные клеточные линии, любезно предоставленные Jonathan Soboloff и Mohamed Trebak, созданные на базе клеток линии HEK293: STIM1Orai3 (линия, экспрессирующая экзогенные белки STIM1-YFP и Orai3-CFP), STIM2Orai3 (линия, экспрессирующая экзогенные белки STIM2-YFP и Orai3-CFP) [32], STIM1 KO (линия с подавлением экспрессии белка STIM1 методом CRISPR/Cas9), STIM2 KO (линия с подавлением экспрессии белка STIM2 методом CRISPR/Cas9) и Orai3 KO (линия с подавлением экспрессии белка Orai3 методом CRISPR/Cas9) [30]. Клеточные линии культивировали в среде DMEM («Биолот», Россия) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков пенициллина (100 ед./мл) и стрептомицина (0.1 мг/мл) при 37°C и 5% CO₂.

Флуоресцентные измерения

Изменения концентрации внутриклеточного кальция регистрировали с использованием флуоресцентного зонда Fluo-4 AM (Thermo Fisher Scientific, США). Клеточные линии рассевали на 96-луночные планшеты для культивирования клеток за 48 ч до начала измерений. Клетки сначала инкубировали в течение 1 ч в растворе HBSS (мМ: 2 CaCl₂, 130 NaCl, 25 KCl, 1.2 MgCl₂, 10 HEPES и 10 глюкоза), содержащем 5 мкМ Fluo-4 AM, затем в течение 30 мин в растворе HBSS, содержащем соединение 4-MPTC (InterBioScreen Ltd., Россия) либо 1% DMSO (Sigma-Aldrich, США). Измерения проводили в присутствии 2 мМ кальция во внеклеточном растворе на планшетном ридере Fluostar Omega (BMG labtech, Германия). Данные представлены как значения интенсивности флуоресценции Fluo-4, нормированные на базальное значение флуоресценции.

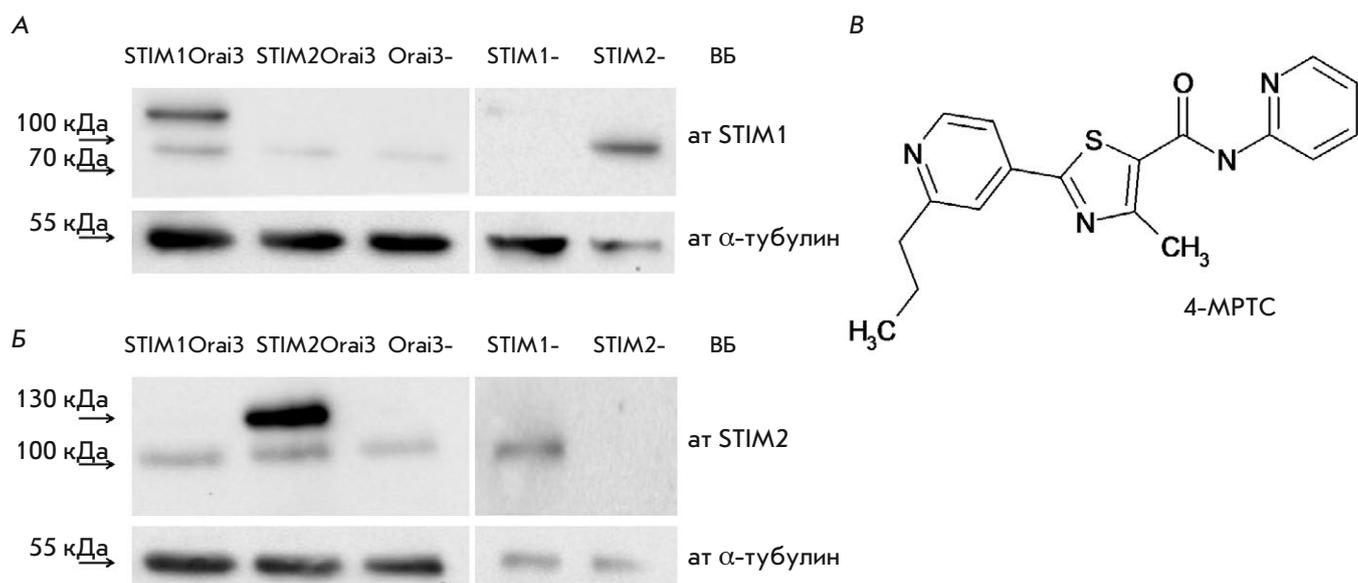


Рис. 1. Уровень экспрессии белков STIM в клеточных линиях STIM1Orai3, STIM2Orai3, Orai3 KO, STIM1 KO и STIM2 KO. А – иммуноблоттинг с использованием антител против STIM1. Б – иммуноблоттинг с использованием антител против STIM2. Для оценки равномерности нанесения проб представлены данные по окрашиванию проб антителами к α -тубулину. В – структурная формула химического соединения 4-MPTC

Электрофорез и иммуноблоттинг

Клетки выращивали на чашках Петри диаметром 60 мм, затем лизировали с добавлением коктейля ингибиторов протеаз. Электрофорез белков проводили в денатурирующих условиях в 8% полиакриламидном геле. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли полусухим методом на установке для переноса (Hoefer Pharmacia Biotech., Германия). Первичные антитела к STIM1 (Cell Signaling #4917, США), STIM2 (Cell Signaling #5668) и α -тубулину (Sigma-Aldrich #T6074, США) разводили в соотношении 1:1000. Вторичные антитела Anti-Mouse IgG (Sigma-Aldrich #A0168) для α -тубулина и Anti-Rabbit IgG (Sigma-Aldrich #A0545) для STIM1 и STIM2. Блоты проявляли на устройстве BioRad Cell Imaging System (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Низкомолекулярные химические соединения для скрининга, в том числе и 4-MPTC, любезно предоставленные компанией InterBioScreen Ltd. (ibscreen.com) в сухом виде, растворяли в DMSO до концентрации 10 мМ.

Статистическая обработка

Статистическую обработку проводили с использованием программного обеспечения Origin 8. Результаты флуоресцентных измерений проверяли на нормальность с помощью критерия Фишера. Группы данных сравнивали с помощью теста Бонферрони, статистически значимые различия отмечены на рисунках: «*» – при доверительном интервале $p < 0.05$,

«***» – при $p < 0.001$ и «n.s.» – различия статистически не значимы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для поиска низкомолекулярных соединений, модулирующих активность белков STIM2, использовали созданную на основе клеток линии HEK293 модельную клеточную линию, стабильно экспрессирующую экзогенные белки STIM2 и Orai3 (клеточная линия STIM2Orai3) (рис. 1А). Эффект влияния тестовых соединений на амплитуду кальциевого сигнала клеток в ответ на опустошение внутриклеточных кальциевых депо регистрировали с помощью флуоресцентного зонда Fluo-4 AM. Опустошение внутриклеточных кальциевых депо достигалось путем добавления во внеклеточный раствор 1 мкМ тапсигаргина (Tg), селективного блокатора кальциевых помп эндоплазматического ретикулума. На первом этапе тестировали действие библиотеки аналогов соединения 2-APB на Tg-индуцированный кальциевый ответ. С этой целью клетки инкубировали в растворе HBSS, содержащем каждое из 250 исследуемых соединений (в концентрации 100 мкМ) в течение 30 мин перед началом экспериментов, в которых оценивали амплитуду кальциевого ответа на приложение 1 мкМ Tg. В результате скрининга библиотеки отобрали химическое соединение 4-MPTC (рис. 1В), наиболее сильно влияющее на Tg-индуцированный кальциевый ответ в клетках STIM2Orai3. Кальциевый ответ клеток был подавлен на $39 \pm 3\%$ по сравнению с клетками,

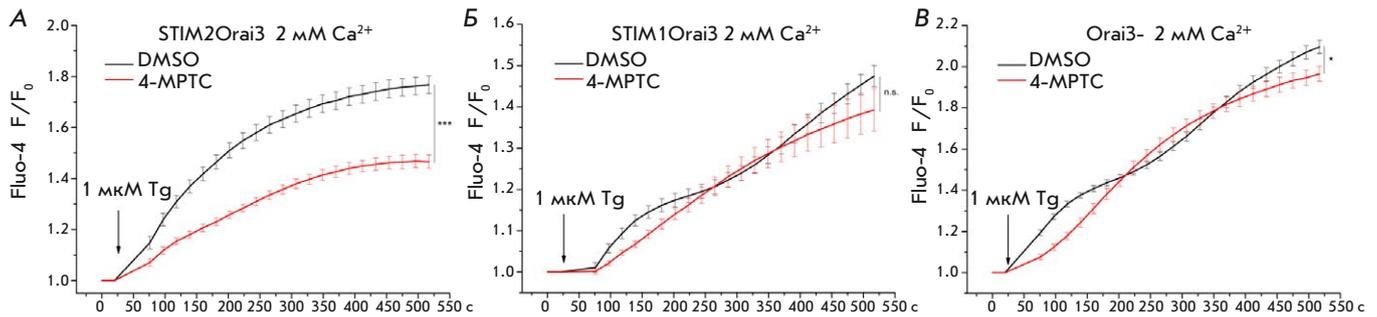


Рис. 2. Влияние соединения 4-MPTC на Tg-индуцированный кальциевый ответ в клеточных линиях с экспрессией экзогенных белков STIM2 и Orai3 (A), STIM1 и Orai3 (Б) и с подавлением экспрессии белка Orai3 (B). Показана зависимость флуоресценции Fluor-4 от времени, нормированная на базальный уровень флуоресценции. До начала эксперимента клетки инкубировали в течение 30 мин в растворе HBSS с добавлением 100 мкМ 4-MPTC. Контрольные клетки инкубировали в течение 30 мин в растворе HBSS с добавлением 1% DMSO. Данные представлены как средние значения ± стандартная ошибка среднего ($n = 12$)

инкубированными в растворе, содержащем 1% DMSO (рис. 2A). Поскольку соединение 4-MPTC существенно подавляет Tg-индуцированный кальциевый ответ в клетках с повышенной экспрессией белков STIM2 и Orai3, то можно полагать, что 4-MPTC модулирует активность именно этих белков. В пользу непосредственного действия 4-MPTC на Orai3 может говорить и тот факт, что соединение 2-APB способно активировать канал Orai3 [27]. Для проверки влияния соединения 4-MPTC на каналы Orai3 использовали клеточную линию HEK293 с нокаутом белка Orai3 (клеточная линия Orai3 KO). Инкубация клеток Orai3 KO с 4-MPTC изменяла форму Tg-индуцированного кальциевого ответа и снижала его амплитуду на $12 \pm 3\%$ (рис. 2B). Более того, в клеточной линии HEK293 с экспрессией экзогенных белков STIM1 и Orai3 (клеточная линия STIM1Orai3) инкубация клеток с соединением 4-MPTC не подавляет амплитуду Tg-индуцированного кальциевого ответа (рис. 2B), а значит, и не уменьшает активность каналов Orai3. Следовательно, белок Orai3 не является селективной мишенью соединения 4-MPTC.

Известно, что активность депо-управляемых каналов в клетке может модулироваться как белками STIM1, так и белками STIM2 [8]. Изменяя уровень экспрессии данных белков, можно управлять преобладающим путем активации депо-управляемого входа либо через белок STIM1, либо через STIM2. Для проверки действия соединения 4-MPTC на белок STIM1 использовали клеточную линию HEK293 с экспрессией экзогенных белков STIM1 и Orai3. Как было сказано выше, инкубация клеток STIM1Orai3 с соединением 4-MPTC меняет форму, но не подавляет амплитуду Tg-индуцированного кальциевого ответа (рис. 2B). Поскольку в клеточной линии STIM2Orai3 соединение 4-MPTC существенно уменьшало амплитуду кальциевого ответа,

но не изменяло форму кривой (рис. 2A), можно предположить, что на путь активации депо-управляемого входа это соединение действует через белок STIM2, но не через STIM1. Изменение формы кривой в клеточных линиях Orai3 KO и STIM1Orai3 достаточно характерно и отражает уменьшение скорости развития кальциевого ответа. Поскольку в клетках Orai3 KO и STIM1Orai3 присутствует эндогенный белок STIM2 (рис. 1B), соединение 4-MPTC может уменьшить активность этого белка и тем самым изменить динамику как выброса кальция из депо в цитоплазму, так и входа внеклеточного кальция. Аналогичное влияние на кальциевый ответ оказывает нокаут белка STIM2 с применением коротких интерферирующих РНК, который уменьшает и выброс кальция из депо [33], и последующий вход [4, 34]. Клеточные линии со сверхэкспрессией белков STIM (STIM1Orai3, STIM2Orai3) содержат эндогенные белки STIM1 и STIM2 (рис. 1A,Б), что затрудняет интерпретацию результатов. Поэтому в дальнейших исследованиях использовали клеточные линии с нокаутом белков STIM1 (клеточная линия STIM1 KO) и STIM2 (клеточная линия STIM2 KO), которые лишены этого недостатка (рис. 1A,Б).

При полном подавлении экспрессии STIM1 белок STIM2 становится ключевым и единственным активатором депо-управляемого входа кальция [4]. Предварительное инкубирование клеток STIM1 KO с 4-MPTC уменьшало на $57 \pm 8\%$ Tg-индуцированный кальциевый ответ по сравнению с контролем (инкубация с 1% DMSO) (рис. 3A). Необходимо отметить, что в этих условиях 4-MPTC более эффективно подавляет депо-управляемый вход кальция. Так, в клеточной линии STIM1 KO Tg-индуцированный ответ был подавлен на 57%, тогда как в клетках STIM2Orai3 подавление составило 39%. В клетках с нокаутом белка STIM2, в которых единственным

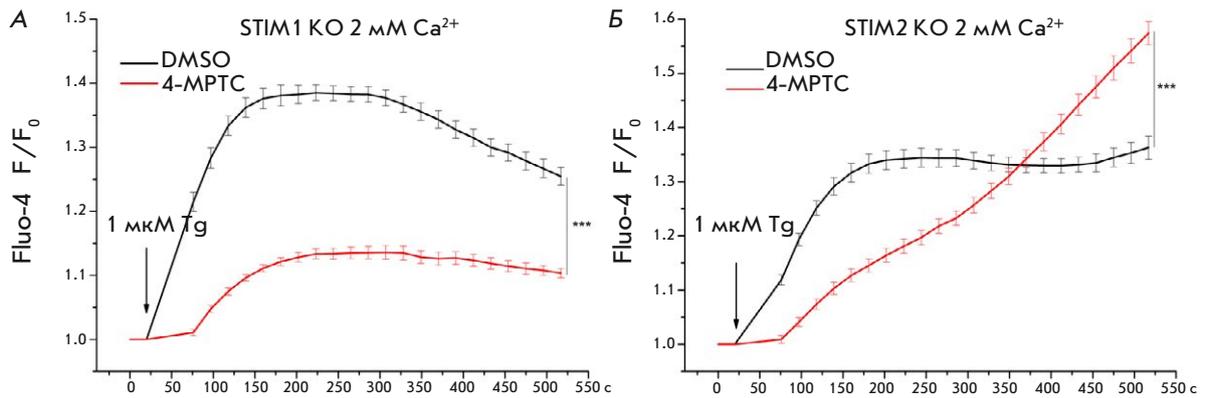


Рис. 3. Влияние соединения 4-MPTC на Tg-индуцированный кальциевый ответ в клеточных линиях с подавлением экспрессии белка STIM1 (А) и STIM2 (Б). Показана зависимость флуоресценции Fluo-4 от времени, нормированная на базальный уровень флуоресценции. До начала эксперимента клетки инкубировали в течение 30 мин в растворе HBSS с добавлением 100 мкМ 4-MPTC. Контрольные клетки инкубировали в течение 30 мин в растворе HBSS с добавлением 1% DMSO. Данные представлены как средние значения ± стандартная ошибка среднего ($n = 12$)

активатором депо-управляемого входа кальция является белок STIM1, наблюдается существенное изменение формы кривой Tg-индуцированного ответа после инкубации с соединением 4-MPTC, концентрация кальция увеличивается медленнее, чем в контрольных клетках, но максимальная амплитуда кальциевого ответа выше на $61 \pm 5\%$ (рис. 3Б). Экспериментально показано, что соединение 4-MPTC в клеточных линиях STIM1 KO и STIM2 KO действует разнонаправленно, ингибируя кальциевый ответ через STIM2-зависимые пути и увеличивая его через STIM1-зависимые пути. Таким образом, отобранное нами соединение 4-MPTC обеспечивает возможность разделения путей активации депо-управляемого входа через различные белки STIM, но механизм действия этого соединения требует уточнения.

Соединение 4-MPTC имеет характерную кривую зависимости эффекта действия от концентрации (рис. 4). Изучено действие 4-MPTC в концентрации 0.001, 0.1, 1, 10 и 100 мкМ на Tg-индуцированный кальциевый ответ в клетках STIM2Orai3. Величина концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) составляет 1 мкМ и рассчитана по аппроксимирующей кривой.

Таким образом, из представленных выше результатов можно заключить, что в клеточных линиях с преобладающим количеством белка STIM2 (STIM1 KO, STIM2Orai3) применение 4-MPTC существенно подавляет амплитуду кальциевого ответа на Tg. А в клеточных линиях с преобладающим количеством белка STIM1 (STIM2 KO, STIM1Orai3) соединение 4-MPTC изменяет форму кривой кальциевого ответа без уменьшения его амплитуды. Т.е. соединение 4-MPTC селективно подавляет вход

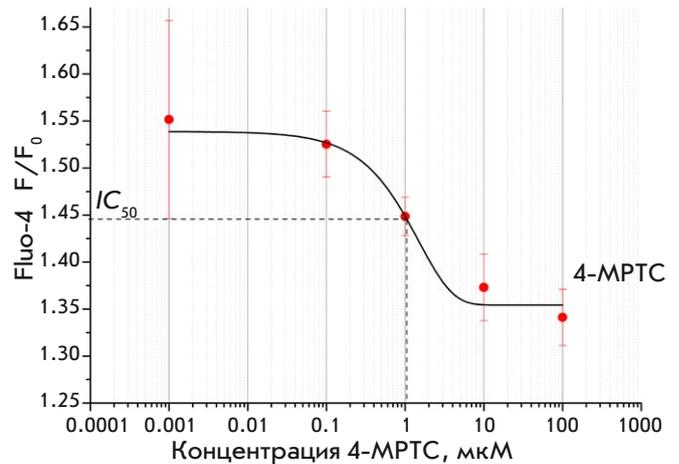


Рис. 4. Зависимость амплитуды Tg-индуцированного кальциевого ответа от концентрации соединения 4-MPTC в клеточной линии, экспрессирующей экзогенные белки STIM2 и Orai3. Показано значение флуоресценции Fluo-4 на 9-й мин эксперимента, нормированное на базальный уровень флуоресценции. До начала эксперимента клетки инкубировали в течение 30 мин с различными концентрациями 4-MPTC (0.001, 0.1, 1, 10 и 100 мкМ). Данные представлены как средние значения ± стандартная ошибка среднего ($n = 6$). Пунктиром обозначены уровень подавления на 50% от максимального и концентрация полумаксимального ингибирования ($IC_{50} = 1$ мкМ)

кальция при депо-управляемом входе через STIM2-зависимый, но не через STIM1-зависимый путь.

Несмотря на то что соединение 2-APB широко применяется как блокатор депо-управляемого входа кальция, оно недостаточно селективно подавляет

депо-зависимый вход, а кроме того, имеет разнонаправленный эффект в зависимости от концентрации. В поисках блокатора, лишённого перечисленных недостатков, исследуют производные 2-АРВ [35–41]. Большинство найденных соединений подавляют депо-управляемый вход в меньших концентрациях, чем 2-АРВ, а также лишены способности активировать вход кальция при определенных концентрациях, иными словами, обладают лучшими блокирующими свойствами, чем исходное соединение. При поиске новых блокаторов депо-управляемого входа большее внимание уделяется STIM1-зависимому пути активации депо-управляемого входа, а STIM2-зависимый путь часто остается неисследованным. Например, в качестве модельных используют клетки линии MDA-MB-231, где ключевую роль в депо-зависимом входе играют белки STIM1 и Orail, либо клетки HEK293, экспрессирующие STIM1 и белки семейства Orai [42, 43]. Исследование соединений DPB163-АЕ и DPB162-АЕ показало, что они по-разному взаимо-

действуют со STIM1 и STIM2, но в результате подавляют депо-зависимый вход через оба эти белка [37]. Обнаруженное нами соединение 4-MPTC обладает ингибирующим эффектом на STIM2-зависимый путь, но не подавляет вход кальция через STIM1-зависимый путь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Скрининг библиотеки аналогов соединения 2-АРВ клеток позволил отобрать соединение 4-MPTC, которое оказывает ингибирующий эффект на Tg-индуцированный кальциевый ответ клеток через STIM2-зависимый путь поступления кальция, но не подавляет вход кальция через STIM1-зависимый путь. Механизм действия этого соединения на белок STIM2 требует дальнейшего уточнения.●

*Работа поддержана грантами
РФФИ № 17-54-80006 (АС, АГ, ЛГ, ЕК)
и РНФ № 19-14-00114 (АС, АИШ, ЕК).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Putney J.W. // Cell Calcium 1986. V. 7. № 1. P. 1–12.
- Yao Y., Tsien R.Y. // J. Gen. Physiol. 1997. V. 109. № 6. P. 703–715.
- Zhang S.L., Yu Y., Roos J., Kozak J.A., Deerinck T.J., Ellisman M.H., Stauderman K.A., Cahalan M.D. // Nature. 2005. V. 437. № 7060. P. 902–905.
- Liou J., Kim M.L., Heo W.D., Jones J.T., Myers J.W., Ferrell J.E., Meyer T. // Curr. Biol. 2005. V. 15. № 13. P. 1235–1241.
- Stathopoulos P.B., Zheng L., Li G., Plevin M.J., Ikura M. // Cell. 2008. V. 135. № 1. P. 110–122.
- Brandman O., Liou J., Park W.S., Meyer T. // Cell. 2007. V. 131. № 7. P. 1327–1339.
- Ong H.L., De Souza L.B., Zheng C., Cheng K.T., Liu X., Goldsmith C.M., Feske S., Ambudkar I.S. // Sci. Signaling. 2015. V. 8. № 359. P. 3.
- Shalygin A., Skopin A., Kalinina V., Zimina O., Glushankova L., Mozhayeva G.N., Kaznacheyeva E. // J. Biol. Chem. 2015. V. 290. № 8. P. 4717–4727.
- Prakriya M. // Curr. Topics Membranes. 2013. V. 71. P. 1–32.
- Prakriya M., Feske S., Gwack Y., Srikanth S., Rao A., Hogan P.G. // Nature. 2006. V. 443. № 7108. P. 230–233.
- Skopin A., Shalygin A., Vigont V., Zimina O., Glushankova L., Mozhayeva G.N., Kaznacheyeva E. // Biochimie. 2013. V. 95. № 2. P. 347–353.
- Kaznacheyeva E., Glushankova L., Bugaj V., Zimina O., Skopin A., Alexeenko V., Tsiokas L., Bezprozvanny I., Mozhayeva G.N. // J. Biol. Chem. 2007. V. 282. № 32. P. 23655–23662.
- Cheng K.T., Ong H.L., Liu X., Ambudkar I.S. // Adv. Exp. Med. Biol. 2011. V. 704. P. 435–449.
- Vigont V., Kolobkova Y., Skopin A., Zimina O., Zenin V., Glushankova L., Kaznacheyeva E. // Front. Physiol. 2015. V. 6. P. 337.
- Nekrasov E.D., Vigont V.A., Klyushnikov S.A., Lebedeva O.S., Vassina E.M., Bogomazova A.N., Chestkov I.V., Semashko T.A., Kiseleva E., Sulдина L.A., et al. // Mol. Neurodegen. 2016. V. 11. P. 27.
- Ryazantseva M., Skobeleva K., Glushankova L., Kaznacheyeva E. // J. Neurochem. 2016. V. 136. № 5. P. 1085–1095.
- Ryazantseva M., Skobeleva K., Kaznacheyeva E. // Biochimie. 2013. V. 95. № 7. P. 1506–1509.
- Berna-Erro A., Braun A., Kraft R., Kleinschnitz C., Schuhmann M.K., Stegner D., Wultsch T., Eilers J., Meuth S.G., Stoll G., Nieswandt B. // Sci. Signaling. 2009. V. 2. № 93. P. ra67.
- Rao W., Zhang L., Peng C., Hui H., Wang K., Su N., Wang L., Dai S.H., Yang Y.F., Chen T., Luo P., Fei Z. // Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis. 2015. V. 1852. № 11. P. 2402–2413.
- Hou P.F., Liu Z.H., Li N., Cheng W.J., Guo S.W. // Cell. Mol. Neurobiol. 2015. V. 35. № 2. P. 283–292.
- Miao Y., Shen Q., Zhang S., Huang H., Meng X., Zheng X., Yao Z., He Z., Lu S., Cai C., Zou F. // Breast Cancer Res. 2019. V. 21. № 1. P. 99.
- Sobradillo D., Hernández-Morales M., Ubierna D., Moyer M.P., Núñez L., Villalobos C. // J. Biol. Chem. 2014. V. 289. № 42. P. 28765–28782.
- Maruyama T., Kanaji T., Nakade S., Kanno T., Mikoshiba K. // J. Biochem. 1997. V. 122. № 3. P. 498–505.
- Prakriya M., Lewis R.S. // J. Physiol. 2001. V. 536. № 1. P. 3–19.
- Hu H.Z., Gu Q., Wang C., Colton C.K., Tang J., Kinoshita-Kawada M., Lee L.Y., Wood J.D., Zhu M.X. // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. № 34. P. 35741–35748.
- Singh A.K., Saotome K., McGoldrick L.L., Sobolevsky A.I. // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 1. P. 2465.
- Schindl R., Bergsmann J., Frischauf I., Derler I., Fahrner M., Muik M., Fritsch R., Groschner K., Romanin C. // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. № 29. P. 20261–20267.
- Missiaen L., Callewaert G., De Smedt, H. Parys J.B. // Cell Calcium. 2001. V. 29. № 2. P. 111–116.
- Soboloff J., Rothberg B.S., Madesh M., Gill D.L. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2012. V. 13. № 9. P. 549–565.
- Emrich S.M., Yoast R.E., Xin P., Zhang X., Pathak T., Nwokkonko R., Gueguinou M.F., Subedi K.P., Zhou Y., Ambudkar I.S., et al. // J. Biol. Chem. 2019. V. 294. № 16. P. 6318–6332.
- Wei M., Zhou Y., Sun A., Ma G., He L., Zhou L., Zhang S., Liu J., Zhang S.L., Gill D.L., Wang Y. // Pflugers Arch. Eur. J.

- Physiol. 2016. V. 468. № 11–12. P. 2061–2074.
32. Parvez S., Beck A., Peinelt C., Soboloff J., Lis A., Monteilh-Zoller M., Gill D.L., Fleig A., Penner R. // *FASEB J.* 2008. V. 22. № 3. P. 752–761.
33. Thiel M., Lis A., Penner R. // *J. Physiol.* 2013. V. 591. № 6. P. 1433–1445.
34. Bird S., Hwang S.Y., Smyth J.T., Fukushima M., Boyles R.R., Putney J.W. // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. № 20. P. 1724–1729.
35. Djillani A., Doignon I., Luyten T., Lamkhioued B., Gangloff S.C., Parys J.B., Nüße O., Chomienne C., Dellis O. // *Cell Calcium.* 2015. V. 58. № 2. P. 171–185.
36. Djillani A., Nüße O., Dellis O. // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* 2014. V. 1843. № 10. P. 2341–2347.
37. Goto J.I., Suzuki A.Z., Ozaki S., Matsumoto N., Nakamura T., Ebisui E., Fleig A., Penner R., Mikoshiba K. // *Cell Calcium.* 2010. V. 47. № 1. P. 1–10.
38. Hendron E., Wang X., Zhou Y., Cai X., Goto J.I., Mikoshiba K., Baba Y., Kurosaki T., Wang Y., Gill D.L. // *Cell Calcium.* 2014. V. 56. № 6. P. 482–492.
39. Zhou H., Iwasaki H., Nakamura T., Nakamura K., Maruyama T., Hamano S., Ozaki S., Mizutani A., Mikoshiba K. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. V. 352. № 2. P. 277–282.
40. Hofer A., Kovacs G., Zappatini A., Leuenberger M., Hediger M.A., Lochner M. // *Bioorg. Med. Chem.* 2013. V. 21. № 11. P. 3202–3213.
41. Dellis O., Mercier P., Chomienne C. // *BMC Pharmacol.* 2011. V. 11. P. 1.
42. Schild A., Bhardwaj R., Wenger N., Tscherrig D., Kandasamy P., Dergiç J., Baur R., Peinelt C., Hediger M.A., Lochner M. // *Internat. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 16. P. 1–28.
43. Wang X., Wang Y., Zhou Y., Hendron E., Mancarella S., Andrade M.D., Rothberg B.S., Soboloff J., Gill D.L. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3183.