

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНКИРИНОВЫЕ ПОВТОРЫ

© Д. А. Воронин, Е. В. Киселева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск;
электронный адрес: elka@bionet.nsc.ru

В обзоре приведены и обсуждаются данные о строении и функциональной роли белков, содержащих анкириновые повторы и присутствующих в клетках различных организмов, но не относящихся к цитоскелетным белкам. Это один из наиболее интересных с функциональной точки зрения белков, многие важные свойства которых обусловлены анкирин-подобными повторами. Эти повторы обеспечивают межбелковые взаимодействия, необходимые для формирования транскрипционных комплексов, регулирующих экспрессию генов, развития и регуляции сигнальных путей, вовлеченных в индукцию иммунного ответа клеток, биогенеза и формирования катионных каналов в мембранах, регуляции некоторых стадий клеточного цикла, обеспечения взаимодействий между симбионтами и их хозяевами и для многих других процессов. Мутации генов, кодирующих эти белки, могут вызывать изменение экспрессии некоторых генов, имеющих отношение к ряду заболеваний человека и животных, поэтому исследование свойств анкирин-подобных белков является областью интенсивных исследований в современной биологии.

Ключевые слова: белки с анкириновыми повторами, белок-белковое взаимодействие, регуляция экспрессии генов, регуляция клеточного цикла, эукариоты, прокариоты.

Анкирин является специфическим белком, ассоциированным с плазматической мембраной, выявляется в клетках высших и низших эукариот и обеспечивает взаимодействие цитоскелета с интегральными мембранными белками. К анкирин-подобным белкам относят белки, имеющие один или несколько анкириновых повторов. Анкириновый повтор, состоящий из 33 аминокислот, был впервые идентифицирован в белке, выполняющем роль регулятора клеточного цикла (Swi6/Cdc10) у дрожжей и дрозофилы, и в сигнальном белке Notch, влияющем на эмбриогенез мухи (Breedon, Namyth, 1987). Данные белки были классифицированы по повтору, подобному тому что присутствует в белке анкирине, содержащем 24 копии такого повтора (Lux et al., 1990). Позднее анкирин-подобные повторы были обнаружены в большом количестве у других белков, участников регуляции множества внутриклеточных процессов, в основе которых лежат белок-белковые взаимодействия.

База данных SMART содержит 19 276 первичных последовательностей анкириновых повторов у 3608 белков, идентифицированных у представителей трех суперцарств — эукариот, бактерий и архей, а также в геномах вирусов, содержащих нуклеотидные последовательности, гомологичные последовательностям, кодирующим анкирин-подобные повторы (Mozavi et al., 2004). Наличие таких повторов обеспечивает межбелковые взаимодействия, необходимые в развитии и регуляции огромного количества сигнальных путей как в одноклеточных, так и в сложных многоклеточных организмах. Несмотря на то что анкириновые повторы были найдены в составе большого количества биологически важных белков, следует отметить, что до сих пор не было описано ни одного слу-

чая связи между присутствием такого повтора и наличием ферментативной активности белка.

Наиболее важные семейства белков, которые содержат в своей структуре несколько анкириновых повторов, приведены в табл. 1. К ним относятся белки, участвующие в подавлении или развитии опухолей у человека и животных, белки (например, Notch), вовлеченные в процессы сигнальной трансдукции в развивающемся организме дрозофилы, регуляторы транскрипционных факторов, участвующих в индукции иммунного ответа клеток эукариот, и др. (Dushay et al., 1996; Malek et al., 2003; Mosavi et al., 2004). Интересно, что большое количество повторов анкириновой природы было также найдено у некоторых представителей семейства белков TRP, формирующих катионные каналы в мембранах (Sedgwick, Smerdon, 1999). Установлено, что белки с анкирин-подобными повторами выполняют важную роль в развитии или инициации иммунного ответа у эукариот, а также в проявлении ряда других функционально важных свойств про- и эукариотических клеток (Mosavi et al., 2004).

Структура анкириновых повторов

Каждая из анкирин-подобных повторенных последовательностей (танDEMов) содержит 33—36 аминокислотных остатков (а. о.). Их количество может варьировать от 2 до 34 повторов на белок, но большинство белков содержит около 6 повторов. Самый большой тандем (34 повтора) был предсказан при изучении открытой рамки считывания (ORF EAA39756) в геноме *Giardia lamblia* (Mosavi et al., 2004). Вторичная структура анкириновых повторов

Т а б л и ц а 1
Семейства белков с анкириновыми повторами,
выявленных у животных, растений и бактерий

Организмы	Белок	Количество повторов	Функции	
Животные	IkB	6—7	Регулятор транскрипции	
	BCL-3	7	Онкопротеин, регулятор транскрипции	
	BARD1	3	Ингибитор полиаденилизации	
	INK4	3—5	Супрессоры опухолей, регуляторы клеточного цикла	
	RNase L	9	Рибонуклеаза	
	Mbp1	4	Транскрипционный фактор (поздняя G ₁ -фаза клеточного цикла)	
	Tv1-1	4	Адаптер сигнальной трансдукции	
	RFXANK	4	Регулятор транскрипции	
	53BP2	4	Супрессор опухоли	
	TRPC	1, 3, 4	Катионные каналы	
	Notch (<i>Drosophila</i>)	7	Детерминация клеток, участие в раннем развитии (эмбриогенезе)	
	Растения	NPR1/NIM	4	Регулятор транскрипции
		cpSRP43	4	Сигнальная трансдукция в хлоропластах
Дрожжи	Swi4	4	Транскрипционный фактор	
	Swi6	4	То же	
Альфа-протеобактерии	ankA	11	Инициатор инфекции у эукариот	
	ankB		Обеспечивает локализацию каталазы	

представлена следующей пространственной конформацией: альфа-спираль/бета-шпилька (петля)/альфа-спираль (Батрукова и др., 2000; Mosavi et al., 2004). Две антипараллельные альфа-спирали связаны с бета-шпилькой (петлей) примерно под углом в 90°, формируя тем самым L-конформационную форму (рис. 1). Спираль, содержащая повтор, располагается напротив той ее части, которая содержит смежный повтор, и так повторяется до участка бета-шпильки (петли). Анализ аминокислотных последовательностей анкиринового повтора показал наличие в нем «значимых» аминокислотных остатков, которые определяют конформацию анкиринового фрагмента. Наиболее принципиальной областью повтора является мотив TPLH в позиции с 4-го по 7-й а. о. На пятой позиции располагается пролин (P), образующий водородную связь с гистидином (H) в позиции 7 спирали и с треонином (T) в

позиции 4 петли, что необходимо для инициации формирования L-формы повтора. Такая структура анкирин-подобных повторов необходима для эффективного обеспечения ими белок-белковых взаимодействий (Mosavi et al., 2004). Наиболее часто местом связывания белков служит область бета-шпилька (петля) повтора, но встречаются комплексы белков, в которых связывание происходит в области внутренней альфа-спирали повтора, например в белке RFXANK (Nekrep et al., 2001).

Белки животных, содержащие анкириновые повторы и участвующие в защитных реакциях клетки на патогенные воздействия

Известно, что гены семейства *Rel* (Relish) животных кодируют белки, необходимые для регуляции иммунного ответа клеток (Orian et al., 1999). К ним относятся ядерные транскрипционные факторы NF-κB, участвующие в иммунном ответе у позвоночных и дрозофилы, но отсутствующие у дрожжей и у *C. elegans* (Artavanis-Tsakonas et al., 1995; Petcherski, Kimble, 2000). Показано, что данные факторы (рис. 2, а) всегда присутствуют в цитоплазме клетки в виде гомодимеров или гетеродимеров и инактивируются при взаимодействии с анкириновыми повторами специфических белков семейства IkB (рис. 2, б). Это семейство включает в себя ингибиторы IkBa, IkBβ, IkBγ, IkBε, p105 и BCL-3 (рис. 2, в), которые непосредственно связываются с белками NF-κB и ингибируют их функции, что приводит к задержке этих белков в цитоплазме (за исключением одного фактора BCL-3; см. ниже). После воздействия на клетки животных патогенных веществ, выделяемых бактериями, активируется IkB-протеаза, которая отщепляет анкириновые повторы молекулы ингибитора и тем самым освобождает NF-κB, в результате чего запускается иммунный ответ клетки (Ishikawa et al., 1998; Orian et al., 1999; Dreyfus et al., 2005).

Из семейства вышеперечисленных ингибиторов семейства IkB следует выделить онкобелок BCL-3 (рис. 2, в), впервые описанный при изучении В-клеточной хронической лимфоцитарной лейкемии (B-cell chronic lymphocytic leukemias) (Mitchell et al., 2001). Он является атипичным для данных ингибиторов белком, так как присутствует в нуклеоплазме и приводит к усилению NF-κB-зависимой транскрипции. В отличие от других белков данного семейства, например IkBa, который является ингибитором белков NF-κB, задерживая их в цито-

Т а б л и ц а 2

Представители семейств белков-ингибиторов (IkB) и их мишеней (Rel)

Белки IkB	Белки Rel
IkBa	p50/p65 (RelA); p50/c-Rel
IkBβ	p50/p65 (RelA)
IkBγ	p50; p52
IkBε	p65; c-Rel
IkBR	p50/p65 (RelA); p50
p105	p50
p100	p52
BCL-3	p50; p52 (активирует)

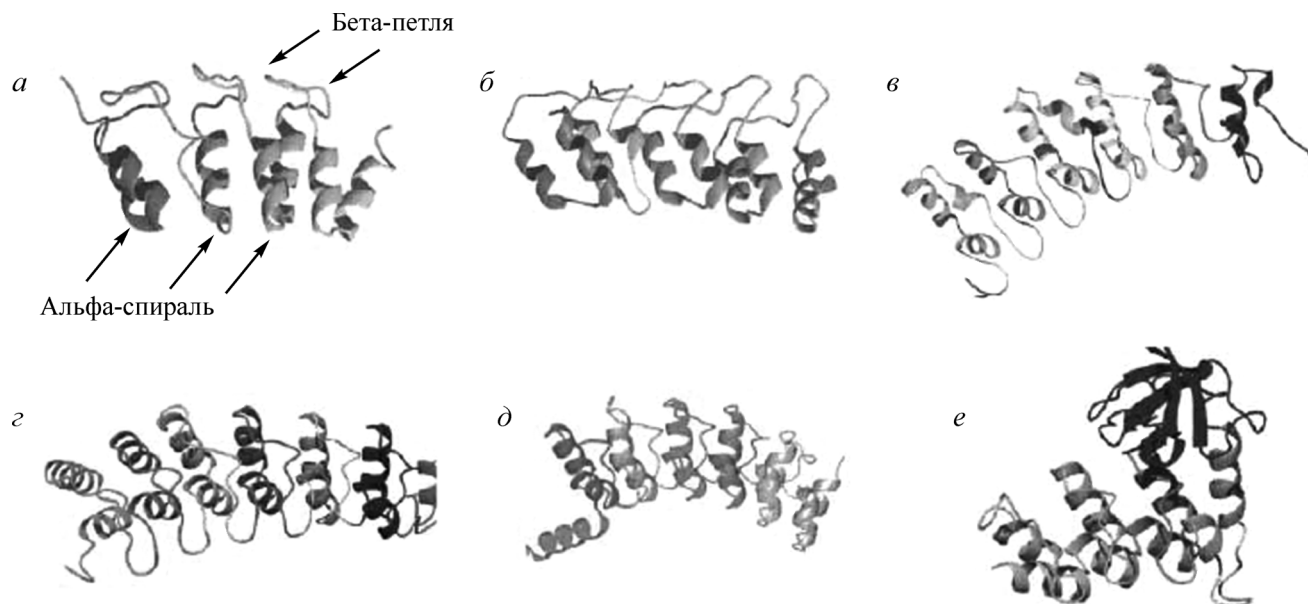


Рис. 1. Структура анкириновых повторов в составе клеточных белков эукариот.

a, б — ингибиторы клеточного цикла p16 (*a*) и p18 (*б*); *в* — IκBα (ингибитор транскрипционного фактора NF-κB); *г* — BCL-3, уникальный представитель белков семейства IκB; *д* — Notch (сигнальный белок дрозофилы); *е* — 53BP2 (опухольный супрессор клеток животных) (по: Mosavi et al., 2004, с модификациями).

плазме, BCL-3 необходим для ядерной локализации и связывания этих транскрипционных факторов с ДНК. Это позволяет дополнительно предполагать наличие ДНК-связывающей функции анкирин-подобных повторов (Mitchell et al., 2002).

Белки — ингибиторы IκBα, IκBβ, IκBγ, IκBε, p100, p105 и BCL-3 — характеризуются наличием консервативного центрального домена, состоящего из 6–7 анкирин-подобных повторов (по 33 а. о. каждый), которые участвуют во взаимодействии с белками NF-κB, задерживая их в цитоплазме (табл. 2) (Almawi, Melemedjian, 2002). При сравнении структурных особенностей белков NF-κBα и BCL-3 было выявлено, что структура их центральных доменов, содержащих анкириновые повторы, идентична, за исключением того, что BCL-3 имеет на один повтор больше. Установлено, что у данных белков имеются существенные различия в структуре их N- и C-доменов, которые играют важную роль в определении функций данных белков (рис. 2, б) (Mitchell et al., 2001). Интересно отметить, что анкириновые повторы белка BARD1 (табл. 1), который также участвует в контроле иммунного ответа клетки за счет регуляции активности NF-κB, связываются *in vitro* с анкириновыми повторами белка BCL-3, инактивируя его (Baer, Ludwig, 2002). При этом BARD1 является фактором, находящимся под контролем продуктов генов, регулируемых белками NF-κB. Тем самым анкириновые повторы участвуют не только в специфических межбелковых взаимодействиях, но и способствуют формированию гомодимерных (или гетеродимерных) комплексов белков, позволяющих регулировать клеточные процессы по механизму обратной связи (Almawi, Melemedjian, 2002; Karppinen et al., 2006).

При исследовании генов и их продуктов, участвующих в иммунных ответах, в которых центральную роль играют инициаторы активности иммунной системы — белки NF-κB, было продемонстрировано сходство механизмов этих процессов у животных и насекомых (Hultmark, 1994). В то же время сравнительный анализ струк-

туры белков у насекомых и животных выявил их существенные различия (Tracey et al., 2003). У дрозофилы этот Rel-белок содержит два домена, из которых первый гомологичен Rel-домену белков NF-κB (основных компонентов активации иммунной системы у животных), а второй выполняет функции аналога ингибиторов NF-κB (белков семейства IκB). Домен, в котором расположен ингибитор, содержит, так же как и белки IκB в животных клетках, анкирин-подобные повторы, однако они различаются между собой по первичной последовательности аминокислот (Cociancich et al., 1994). Данные анкириновые повторы более близки по гомологии к повторам, выявленным в белке Notch у дрозофилы. Как упоминалось выше, у насекомых белок Notch играет важную роль в инициации активации иммунной системы при инфекции организма бактериями. Более того, транскрипты данного белка были найдены и в эмбрионах дрозофилы, что свидетельствует о его возможной роли в эмбриогенезе мух (Dushay et al., 1996).

При изучении других защитных механизмов клетки, таких, например, как апоптоз, был выявлен белок 52BP2, который может связываться с p53, BCL-2 и p65, а также с одной из субъединиц NF-κB (Iwabushi et al., 1994; Kobayashi et al., 2005). Экспрессия гена (53BP2), кодирующего этот белок, приводит к появлению в результате альтернативного сплайсинга двух его вариантов — 53BP2S и 53BP2L, стимулирующих апоптоз за счет их взаимодействия с p53 (Kobayashi et al., 2005). Показано, что данные белки локализуются не только в цитоплазме, но и в митохондриях, они способны индуцировать апоптоз за счет подавления митохондриального трансмембранного потенциала и активации каспазы-9 (Iwabushi et al., 1994). Подробные исследования белка 53BP2 выявили наличие в нем нескольких структурных и функциональных мотивов: участка, богатого Gln (глицином), участка, богатого Pro (пролином), анкириновых повторов и домена, богатого SH₃ (Kobayashi et al., 2005). Мы подробно рассмотрим фрагмент белка, содержащего анкириновые повторы.

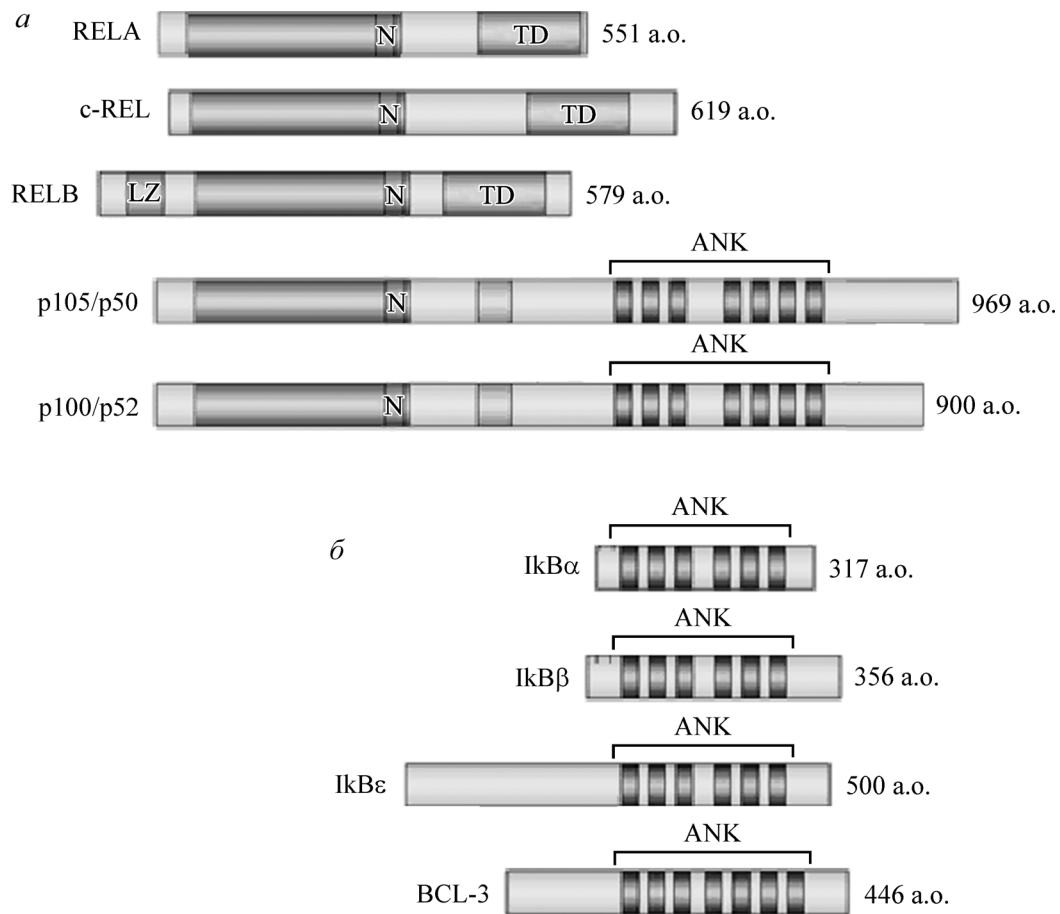


Рис. 2. Схема строения белков семейства Rel, индукторов иммунного ответа клеток животных (а) и их ингибиторов (белков семейства IκB, б).

N — домен, ответственный за локализацию белка в ядре; LZ — leucine-zipper (лейциновая «застежка»), принимающая участие в связывании NF-κB с ДНК; ANK — анкириновые повторы.

Каждый из анкириновых повторов состоит из 33 а. о. и непосредственно продолжается в SH₃-домене (55 а. о.), который был обнаружен во многих белках, вовлеченных в сигнальную трансдукцию. В экспериментах *in vitro* было показано, что наименьший фрагмент белка, сохраняющий способность связываться с p53, содержит только С-концевой участок (228 а. о.) белка 53BP2, в котором локализованы анкириновые и SH₃-богатые повторы (Iwabushi et al., 1994). При этом взаимодействие этих двух доменов с белком p53 происходило в его центральной области, которая необходима для сайт-специфичного связывания с ДНК.

Известно, что супрессор развития опухолей у человека белок p16 ингибирует циклинзависимые киназы CDK4 и CDK6, которые регулируют процесс перехода клетки из фазы G₁ в фазу S. Делеции или точечные мутации в гене p16 способны вызывать множественные заболевания человека, включая рак (Draetta, 1994). Важную роль в ингибировании данным белком киназ выполняют входящие в его состав четыре анкириновых повтора (Beyon et al., 1998; Mosavi et al., 2004), которые в отличие от классических содержат дополнительные аминокислотные последовательности (Voice, Fairman, 1996). Исследование кристаллической структуры белков семейства INK4 (к которым относятся главные супрессоры развития опухолей — p16, p18 и p19) показало, что все они имеют немного деформированную внутреннюю спираль в результате укорочения второго анкиринового повтора. Предполагается,

что выявленные изменения структуры анкириновых повторов обеспечивают более специфичные взаимодействия этих супрессоров с другими клеточными белками (Beyon et al., 1998; Mosavi et al., 2004).

Установлено, что 2',5'-олигоденилатзависимая рибонуклеаза L (RNase L) является одним из инициаторов включения клеточного защитного механизма при внутриклеточных инфекциях (Cozzone, 1998). Она блокирует репликацию инфекционных агентов, расщепляя одноцепочечную РНК. Показано также, что этот белок может быть активирован в отсутствие инфекции и может участвовать в процессе клеточной дифференцировки, активации иммунной системы, а также выступать в качестве супрессора опухолей (Diaz-Guerra et al., 1997). RNase L содержит в N-концевом домене девять анкириновых повторов, из которых два последних формируют Р-петли, являющиеся сайтами связывания для 2',5'-олигоденилатов (2-5A-binding site) (Diaz-Guerra et al., 1997; Cozzone, 1998), т. е. по данному сайту происходит связывание фермента с субстратом, что свидетельствует о способности анкириновых повторов взаимодействовать с нуклеотидными последовательностями.

Показано, что белок Tvl-1, экспрессия которого выявлена в клетках тимуса, легких и семенниках животных, взаимодействует с серин-треониновой киназой Raf-1 посредством анкириновых повторов, расположенных в С-концевом домене данного белка (Lin et al., 1999). Кина-

за Raf-1 является мембранным рецептором и запускает сигнальную трансдукцию в клетке, действуя через вторичные клеточные медиаторы (Rapp, 1991). Активация сигнальной трансдукции посредством Raf-1 обеспечивается белком Tvl-1, который способен специфично увеличивает активность Raf-1 при иммунном ответе на вирусную инфекцию. Изучение связывания Tvl-1 с белками, необходимыми для инициации иммунной системы, позволило показать, что данный белок взаимодействует исключительно с Raf-1 (Lin et al., 1999).

Анализ механизмов взаимодействия Tvl-1 с белком Raf-1 позволил предложить две гипотезы (Lin et al., 1999). Согласно одной из них, при связывании этих белков происходит изменение конформации Raf-1, что приводит к увеличению способности его взаимодействия с другими активными молекулами клетки. Альтернативная гипотеза, объясняющая взаимодействие этих двух белков, предполагает, что Tvl-1 необходим для стабилизации комплекса Raf-1 с другими белками или для закоривания этого комплекса на мембранах клетки. Последний факт подтверждается данными о взаимодействии Raf-1 с белком Ras на мембранах клетки (Loon et al., 1998). Интересно отметить, что экспрессия Raf-1 происходит одновременно с экспрессией других регуляторов иммунной системы, таких как Cdk и ингибиторы развития опухолей — p16 и ILK-1, которые также содержат анкириновые повторы (Lin et al., 1999).

Присутствие белка Tvl-1 было зарегистрировано не только в цитоплазме, но и в ядре, что свидетельствует о возможности его дополнительного взаимодействия помимо Raf-1 с другими белками (Nekrep et al., 2001). Было установлено, что Tvl-1 (RFXANK) участвует в регуляции экспрессии генов главного комплекса гистосовместимости второго класса (MHC 2) (Masternak et al., 1998). Более детальный анализ регуляции экспрессии генов этого комплекса показал, что она обеспечивается фактором X (RFX), состоящим из трех субъединиц — RFX5, RFXAP и RFXANK (B) (Nekrep et al., 2001; Krawczyk, Reith, 2006). Субъединица RFXANK (B) имеет размер 33 кДа и содержит в С-концевом домене три анкириновых повтора. Они входят в состав функционального сайта, который обеспечивает белок-белковые взаимодействия при формировании транскрипционного комплекса, регулирующего экспрессию генов комплекса MHC 2 (Nekrep et al., 2001; Krawczyk, Reith, 2006). Этими же авторами было показано, что в N-концевом домене RFXANK присутствует еще один анкириновый повтор, участвующих в контакте с ДНК. Эти данные свидетельствуют о том, что анкириновые повторы могут выполнять важную роль в определении локализации в ядре фактора RFX, регулирующего гистосовместимость клеток. Более того, наличие мутации в анкириновом повторе вызывает генетическое заболевание у человека (the bare lymphocyte Syndrome), при котором экспрессия MHC 2 на поверхности В-клеток блокируется (Nekrep et al., 2001).

Семейство белков, содержащих анкириновые повторы и формирующих трансмембранные ионные каналы

Семейство TRP (transient receptor potential) включает в себя белки, организующие 56 катионных каналов, которые экспрессируются во многих типах тканей и клеток как у беспозвоночных, так и у позвоночных животных

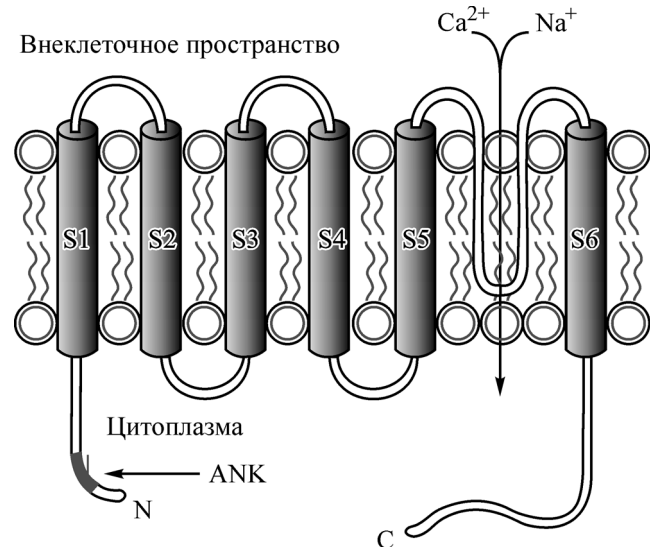


Рис. 3. Схематическое изображение составных доменов катионного TRP-канала, локализованного в плазматической мембране клетки.

S1—S6 — трансмембранные домены; ANK — анкириновые повторы, расположенные на N-конце белка (по: Clapham et al., 2001, с модификациями).

(Vriens et al., 2004). Данные каналы необходимы для регуляции уровня катионов в эукариотических клетках, а входящие в их состав белки являются инициаторами трансдукции внутриклеточных сигналов. Семейство TRP содержит семь субсемейств: TRPC, TRPV, TRPM, TRPN, TRPP, TRPML и TRPA. Строение белков, образующих TRP-каналы, интересно тем, что они содержат несколько типов повторов, в том числе анкириновые (по 33 а. о.), локализующиеся в N-концевых доменах белков (Sedgwick, Smerdon, 1999). С-концевые домены этих белков содержат TRP-последовательность, консервативный пролиновый мотив и сайт CIRB (calmodulin/IP3 receptor binding), необходимый для инициации внутриклеточной трансдукции (Clapham et al., 2001; Liedtke, Kim, 2005).

Представители субсемейств TRPC и TRPV содержат обычно 3—6 анкириновых повторов на цитозольном N-конце белков (рис. 3). У насекомых (дрозофила) и нематод (*Caenorhabditis elegans*) белки TRPV (osm-9) содержат три анкириновых домена и являются осмо-, механо- и хемочувствительными рецепторами в нейронах (Colbert et al., 1997; Tobin et al., 2002). Белки субсемейства TRPM гомологичны меластанину (супрессору опухоли) и не содержат анкириновых повторов. TRPN и TRPA являются близкородственными субсемействами. Белки субсемейства TRPN были выявлены в клетках червей и мух и содержат множественные (до 29) анкириновые повторы в N-концевом домене белка, однако эти белки отсутствуют в клетках человека (Sidi et al., 2003). Установлено, что анкириновые повторы формируют на N-конце анкирин-подобного белка петлю, которая окружает ионный канал в клеточных мембранах с его внутриклеточной стороны (Walker et al., 2000). Это дало основание считать, что данные повторы необходимы для обеспечения транспорта молекул через ионные каналы (Howard, Bechstedt, 2004). Интересно, что белки субсемейства TRPA активируются у животных при понижении температуры до 17 °C, а у беспозвоночных — при ее повышении до 27 °C и более (Bandel et al., 2004; Jordt et al., 2004). Это позволяет пред-

полагать, что данные белки могут выполнять важную роль в терморегуляции.

Показано, что структура анкириновых повторов в TRP-белках сходна с классической, однако данные повторы не всегда строго распознают первичную последовательность других белков (Vazquez et al., 2004). Это позволяет TRP-белкам взаимодействовать одновременно с несколькими другими белками, в основном за счет вариаций поверхностных аминокислотных остатков в структуре анкириновых повторов. До сих пор функции данных повторов в белках семейства TRP точно не определены, хотя показано, что они необходимы для закрепления белков TRPC-каналов в плазматической мембране клеток (Wedel et al., 2003). При удалении анкириновых повторов из белка после его встройки в плазматическую мембрану он может перемещаться во внутриклеточные мембраны. Однако для полноценного функционирования катионных каналов не всегда необходимы анкириновые повторы в N-концевом домене белка из семейства TRPC. Например, в случае белка TRPC1, у сплайсированного варианта которого первые три анкириновых повтора отсутствуют, происходит нормальное формирование катионного канала (Vazquez et al., 2004).

Белки растений, содержащих анкириновые повторы, и их функции

Известно, что частица cpSRP хлоропластов растений (chloroplast signal recognition particle) состоит из эволюционно консервативной субъединицы cpSRP54 с мол. массой 54 кДа и димера другой уникальной субъединицы cpSRP43 с мол. массой 43 кДа (Jonas-Straube et al., 2001; Schunemann, 2004; Hermkes et al., 2006). Частица cpSRP связывается с белками хлорофилла, формируя комплекс cpSRP—хлорофилл, который приобретает способность встраиваться в мембраны тилакоидов хлоропласта. Ключевую роль в образовании данного комплекса играет тандем анкириновых повторов в субъединице cpSRP43. Тандем включает в себя четыре анкириновых повтора, расположенных в N-концевом участке белка, и два хромодомена в C-концевом участке белка. Детальный анализ функциональной роли выявленных повторов показал, что первый анкириновый повтор необходим для связывания субъединицы cpSRP43 с хлорофиллом, а третий и четвертый анкириновые повторы необходимы для ее димеризации (Hermkes et al., 2006). Димеризация данной субъединицы принципиально необходима для формирования полноценного хромодомена на C-конце белка, по которому происходит его связывание с cpSRP54-субъединицей хлоропластов. Это приводит к формированию полноценного комплекса cpSRP (Jonas-Straube et al., 2001). Таким образом, анкириновые повторы, как было показано на данном примере, играют важную роль в белок-белковых взаимодействиях, которые принципиально необходимы для реализации полноценной функции белковых компонентов у растений.

Молекулярно-генетические исследования генома *Arabidopsis* выявили ген, кодирующий белок NPR1 (NIM1, согласно другой классификации), который необходим для индукции систем устойчивости клеток растений на действие патогенных агентов (Loon et al., 1998). Было продемонстрировано, что мутация этого гена вызывает у растений снижение экспрессии некоторых защитных генов PR (первичной устойчивости) и выражается в бурном развитии инфекции у растений (Subramaniam et al., 2001). Де-

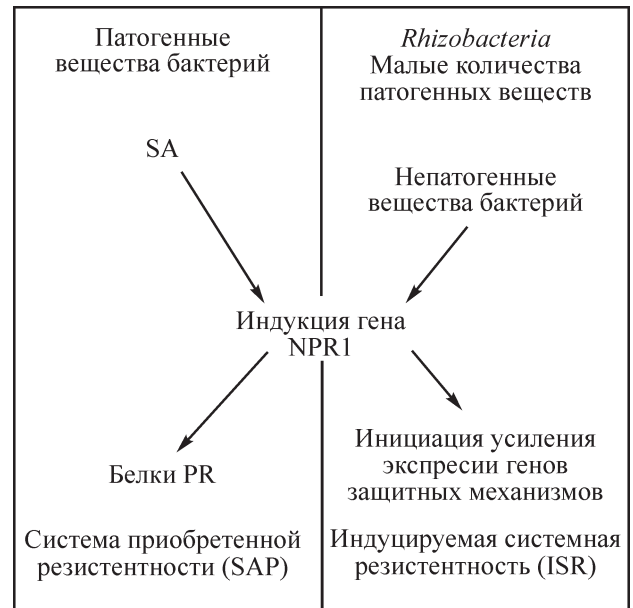


Рис. 4. Схема сигнальной трансдукции, приводящей к включению систем приобретенной (SAR) и индуцированной (ISR) устойчивости, вызываемой патогенами и *Rhizobacteria* у *Arabidopsis thaliana* (по: Loon et al., 1998, с модификациями).

тальные исследования структуры гена *npr1/nim1* у *Arabidopsis* показали, что он кодирует белок, содержащий анкириновые повторы (Zhou et al., 2000). Интересно, что этот белок локализуется в ядре растительной клетки и играет важную роль в регуляции экспрессии генов в ответ на инфекционные заражения бактериями. Показано, что анкириновые повторы необходимы для связывания NPR1/NIM1 с семейством TGA транскрипционных факторов (bZIP) (Zhou et al., 2000; Stange, 2006).

Установлено, что мутации, происходящие в области анкириновых повторов в белке (NPR1), не позволяют клеткам растения индуцировать системы устойчивости к инфекционным агентам и патогенным веществам, которые они вырабатывают (Zhou et al., 2000; Pieterse et al., 2002; Stange, 2006). Известно, что защитные механизмы растений против действия патогенных бактерий не всегда эффективны, поскольку вирулентные бактерии могут блокировать индукцию этих механизмов либо каким-то образом защищаться от ответных реакций клетки на их присутствие (Baker et al., 1997). В некоторых случаях защитные механизмы клетки могут запускаться различными патогенами растений, такими как липосахариды, этилен и салициловая кислота (SA), перед уже устоявшейся и развившейся инфекцией (Desikan et al., 2001; Stange, 2006). При этом патогенное воздействие бактерий на растение редуцируется за счет усиления защитных способностей организма под действием патогенных агентов. Это явление было определено как «индуцируемая системная резистентность» (ISR — induced systemic resistance) (рис. 4) (Genoud et al., 2001). ISR проявляется у таких растений, как арабидопсис, бобы, гвоздичные, огурцы, редис, табак и томаты, после обработки растений химическими реагентами, действия авирулентных веществ патогенных бактерий или в результате действия вирулентных веществ бактерий в тех случаях, когда инфекционный процесс приостанавливается из-за изменения условий окружающей среды.

Фенотипические характеристики индукции «системы приобретенной резистентности» (SAR — systemic acquired resistance) сходны с ISR; она проявляется в случае развивающейся инфекции при накоплении SA или патогенных веществ бактерий (рис. 4), что приводит к активации PR-белков (Gaffney et al., 1993; Pieterse et al., 1998). Некоторые представители PR-белков, такие как бета-1,3-глюконаза и хитиназа, способны разрушать клеточные стенки грибов, другие индуцируют гибель бактерий или некроз собственных, уже погибающих от инфекции клеток (Pieterse et al., 1998). Было показано, что обе системы (ISR и SAR) активируют ген *npr1*, который и выполняет ключевую роль в борьбе растений с инфекционными агентами.

Анкириновые повторы в белке NPR1 (NIM1) у растений сходны по первичной аминокислотной последовательности с таковыми у белков семейства IκB, выявленных в клетках животных (Loon et al., 1998). Данные белки (принадлежащие к семейству IκB) могут влиять на функциональную активность транскрипционного фактора NF-κB, играющего важную роль в регуляции и инициации активности иммунной системы животных.

Анкирин-подобные белки, участвующие в регуляции клеточного цикла у дрожжей

Установлено, что белки Swi4 и Swi6 из семейства транскрипционных факторов, выявленные как у почкующихся, так и у делящихся дрожжей, регулируют экспрессию ряда важных белков-регуляторов клеточного цикла, таких как циклин G, Cln1 и Cln2, циклин-подобный белок Hcs26 (Nasmyth, Dirick, 1991; Ogas et al., 1991; Andrews, 1992). Обнаружено, что белки Swi4 и Swi6 содержат по четыре анкириновых повтора. При изучении Swi6 с использованием метода точечных мутаций было показано, что мутации в первом и четвертом повторах приводят к потере основной функции данного белка (Andrews, 1992). При этом мутантные белки способны формировать трехкомпонентный комплекс (Swi4, Swi6 и ДНК), необходимый для инициации транскрипции, однако поскольку его конформация сильно изменена, комплекс становится неактивным. Этот факт позволил предположить, что данные анкириновые повторы не участвуют в связывании Swi6 с ДНК, а необходимы для формирования стабильной структуры с определенной конформацией, которая может играть роль в дальнейших макромолекулярных взаимодействиях (Nasmyth, Dirick, 1991). Показано, что анкириновый домен белка Swi6 содержит короткую вставку в петлевой структуре между вторым и третьим анкириновыми повторами и необычно большую вставку между третьим и четвертыми повторами (Nasmyth, Dirick, 1991; Andrews, 1992). В области этого домена были также обнаружены короткие делеции в 1—2 а. о. в разных участках петлевой структуры (Nasmyth, Dirick, 1991; Andrews, 1992).

Участие анкирин-подобных белков паразитических бактерий во взаимодействии с внутриклеточными компонентами хозяина

Впервые ген *phlB*, кодирующий анкирин-подобный белок, был найден у бактерий *Serratia liquefaciens* (Givskov et al., 1988). Ген *phlB* был картирован в одном опероне с *phlA* (фосфолипаза бактерий). Белок PhlB (227 а. о.)

регулирует экспрессию фосфолипазы на посттранскрипционном уровне, что объясняет важность данного оперона в регуляции роста бактерий (Givskov et al., 1988). Впоследствии анкирин-подобные белки и их гены были обнаружены у бактерий из разных семейств: актинобактерий, двух видов цианобактерий, у некоторых видов протеобактерий и у четырех видов флуоресцентных бактерий *Pseudomonas* (Schweizer, Hoang, 1995). Большинство из этих белков являются сialogликопротеазами, секретируются в среду и взаимодействуют с гликопротеинами хозяина.

В составе генома бактерий были выявлены два гена — *ankA* и *ankB*, кодирующие белки, которые содержат анкириновые повторы, сходные по составу с анкирином 3 человека (Schweizer, Hoang, 1995). На основании этого было сделано заключение о том, что кодируемые этими генами белки являются интегральными мембранными белками. Высказано предположение о том, что гены, кодирующие анкириновые повторы, которые были найдены у бактерий или вирусов, возможно, являются результатом горизонтального переноса ДНК между прокариотами (Bork, 1993).

Белок AnkA (153—160 кДа) синтезируется бактерией *Anaplasma phagocytophilum*, паразитирующей в нейтрофилах человека и вызывающей патологические изменения иммунной системы хозяина (Dumler et al., 2005). В настоящее время данный белок относится к наиболее активно изучаемым анкирин-подобным белкам бактерий и содержит 11 анкирин-подобных повторов в N-концевом домене белка (Caturegli et al., 2000). AnkA локализуется внутри ядра, где образует комплексы с хроматином, например в ядрах гранулоцитов человека и животных, инфицированных бактериями (Park et al., 2004). Поскольку белок секретируется бактерией *A. phagocytophilum*, предполагается, что он проходит через мембраны бактерии и окружающей ее вакуоли (по механизму IV типа секреции) и затем мигрирует через цитоплазму хозяина и ядерную мембрану внутрь ядра (Park et al., 2004). В ядрах инфицированных клеток AnkA связывает белки ядра и образует комплексы с АТ-богатыми последовательностями геномной ДНК, что приводит к нарушению транскрипции генов, поскольку АТ-богатые районы зачастую являются промоторными областями генов (Dumler et al., 2005). Поэтому данный белок может играть принципиальную роль в развитии патогенеза у человека и животных за счет нарушения регуляции экспрессии эукариотических генов.

Точно такой же механизм развития патогенеза, в котором важную роль играет анкирин-подобный белок AnkA, был выявлен у некоторых видов, близкородственных к *Anaplasma*, — патогенных бактерий *Ehrlichia* и *Rickettsia* (Dumler et al., 2001). Было установлено, что он влияет на экспрессию генов хозяина в зараженных клетках и вызывает серьезные заболевания у человека, поражая клеточные элементы крови (лейкоциты, тромбоциты и эритроциты). Механизм действия AnkA патогенных бактерий *Ehrlichia* на организм инфицированного хозяина более изучен. В частности, установлено, что белок *E. chaffeensis* ингибирует продукцию цитокинов за счет задержки диссоциации комплексов белков IκB и NF-κB, что препятствует попаданию транскрипционных факторов (NF-κB) в ядро и блокирует синтез цитокинов. Методами иммунной электронной микроскопии выявлено присутствие белка AnkA в области конденсированного хроматина в ядре инфицированных клеточных культур и гибнущих апоптозных клеток (Caturegli et al., 2000). Авторы предположили,

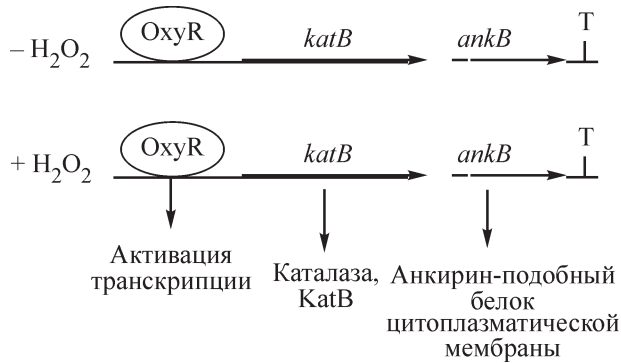


Рис. 5. Схема совместной активации каталазы KatB и анкирин-подобного белка AnkB в ответ на действие перекиси водорода (H₂O₂) у бактерий *Pseudomonas*.

Белок OxyR активирует транскрипцию каталазы KatB и белка AnkB в ответ на действие H₂O₂. Синтезируемая каталаза способствует утилизации H₂O₂ бактериями. Анкирин-подобный белок AnkB обеспечивает закрепление каталазы на внутренней мембране или ее локализацию в периплазматическом пространстве клеточной оболочки бактерий (по: Howell et al., 2000, с модификациями).

что данный белок может влиять на экспрессию регуляторов клеточного цикла, таких как PCNA, pRB и BCL-3, что приводит к задержке клеток на границе фаз G₁ и S (Hsieh et al., 1997; Caturegli et al., 2000).

При исследовании грамотрицательных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка), которые являются одними из основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов у человека, был выявлен ген, кодирующий анкирин-подобный белок длиной 183 а. о., в котором имеются четыре анкириновых повтора длиной 33 а. о. каждый (Howell et al., 2000). Этот белок (19.4 кДа) кодируется геном *ankB* и пронизывает мембрану бактерии так, что его N-концевой домен располагается в цитоплазме, а C-концевой домен находится в периплазме — между клеточной стенкой и плазматической мембраной бактерии (Howell et al., 2000). Ген *ankB* находится вблизи гена *katB* (располагающегося ниже на 57 пар оснований), который кодирует пероксидазониндуцируемую каталазу KatB (бактериальная каталаза первого типа) (Howell et al., 2000). Столь близкое расположение этих генов у бактерий объясняется тем, что продукты этих генов образуют комплекс, необходимый для устойчивости бактерии к H₂O₂. Белок AnkB необходим для стабилизации KatB, но сам не проявляет ферментативной активности. Экспрессия гена *ankB* возрастает при увеличении воздействия на бактерии перекиси водорода (рис. 5) — одного из компонентов пероксисомного аппарата клеток животных (Howell et al., 2000; Carlyon et al., 2005).

Исследование симбиотических бактерий *Wolbachia* показало наличие в их геноме специфических генов, кодирующих белки с анкириновыми повторами. В геноме *Wolbachia* (штамм wMel) было идентифицировано 23 таких гена (ANK-гены), что составляет более 2 % генома бактерий (Iturbe-Ormaetxe et al., 2005). Эти данные не типичны для альфа-протеобактерий, к которым относятся симбиотические бактерии *Wolbachia*, поскольку, например, у близкородственных к *Wolbachia* представителей семейства *Rickettsia*, *Anaplasma* и *Ehrlichia* геном содержит всего 1—3 гена, которые кодируют анкириновые повторы. Описанный в данном обзоре белок AnkA, секретлируемый бактериями и имеющий возможность связываться с хроматином хозяина, а также данные других молекуляр-

но-биологических исследований дают основание предполагать, что ANK-гены у *Wolbachia*, возможно, играют функциональную роль в ее уникальной биологии.

Показано, что симбиотические бактерии *Wolbachia*, которые более корректно можно назвать репродуктивными паразитами, являются облигатными симбионтами насекомых и нематод, наследуются по материнской линии и способны вызвать репродуктивные аномалии у хозяина, такие как цитоплазматическая несовместимость, партеногенез, феминизация и андроцид (O'Neill et al., 1992; Stoutamer et al., 1999; Hurst, Jiggins, 2002). В настоящее время высказано предположение о том, что ANK-гены участвуют во взаимодействиях хозяин—симбионт и влияют на механизмы репродуктивных функций своего хозяина по аналогии с эукариотическими анкирин-подобными белками (Salzberg et al., 2005). Не исключено, что это имеет отношение к механизму появления цитоплазматической несовместимости у насекомых, инфицированных данными бактериями.

Сравнительный анализ ANK-генов у разных штаммов бактерий *Wolbachia*, которые различаются и по разной степени влияния на репродуктивные функции насекомых, позволил выявить корреляцию между наличием ANK-генов и фенотипом этих бактерий (Iturbe-Ormaetxe et al., 2005; Salzberg et al., 2005). Например, штаммы wMel, wMelCs и wMelPop, вызывающие цитоплазматическую несовместимость у дрозофилы, содержат в своем геноме сходные наборы ANK-генов, которые отличаются от тех, что выявлены в штамме wAu, не вызывающем изменение репродуктивных функций у дрозофилы. Тем не менее для доказательства непосредственного участия ANK-генов в механизмах взаимодействия хозяин—симбионт необходимы дополнительные молекулярно-биологические и генетические исследования. Интересно отметить, что четыре белка бактериофага бактерий также содержат анкирин-подобные повторы (Stevens et al., 2001). Более того, эти повторы более гомологичны повторам в анкириновых белках животных и растений, чем бактериальным анкирин-подобным повторам (Stevens et al., 2001).

Известно, что анкирин-подобные белки насекомых (например, дрозофилы) играют важную роль в регуляции клеточного цикла и раннего развития организма (Axton et al., 1994; Elfring et al., 1997). Это позволило предположить, что профаги бактерий *Wolbachia* могут играть принципиальную роль в регуляции бактериями репродуктивных функций своих хозяев (Stevens et al., 2001). Были выявлены также различия в локализации фаговых последовательностей в геноме бактерий и функциональной активности фагов между разными штаммами симбиотических бактерий *Wolbachia*, присутствующими в клетках дрозофил и комаров. Это является дополнительным аргументом участия фагов в нарушении репродуктивных функций насекомых (Steven et al., 2001).

Анализ генома *Escherichia coli* позволил выявить гипотетический белок, названный YjaC, который содержит 7 tandemно расположенных повторов, сходных с анкириновыми повторами, описанными для эукариотических белков (Neuwald, Green, 1994). Поскольку было показано, что белок YjaC мог произойти от эукариотических гомологов, были предсказаны его возможные функциональные взаимодействия с другими белками (Diaz-Guerra et al., 1997).

Установлено, что у *E. coli* ген *yjaC* локализован в открытой рамке считывания между «ацетатным» опероном, необходимым для утилизации ацетата (*ace*), и геном *iclR*,

регулирующим транскрипцию «ацетатного» оперона (Galiniere et al., 1991; Negre et al., 1992). Экспрессия гена *ace* необходима клеткам *E. coli* при их росте на среде с жирными кислотами и ацетатом как единственным источнике углерода (Galiniere et al., 1991; Diaz-Guerra et al., 1997). Предполагается, что анкирин-подобные повторы в составе белка YjaC могут выполнять роль медиаторов во взаимодействии этих двух белков (Diaz-Guerra et al., 1997).

Заключение

Таким образом, приведенные в обзоре данные демонстрируют важную роль белков, содержащих анкириновые повторы, обеспечивающие белок-белковые взаимодействия, в различных внутриклеточных процессах у про- и эукариот. Участие этих белков в таких событиях, как сигнальная трансдукция, регуляция клеточного цикла и транскрипция, а также в других процессах обеспечивается, вероятно, определенной пространственной конформацией анкириновых повторов. Она крайне консервативна среди многих представителей царств растений, животных и Protozoa и специфична для белок-белковых и ДНК-белковых взаимодействий. Возможно, что приобретение простейшими организмами генов с анкириновыми повторами является одним из путей в эволюции и адаптации Protozoa. Особый интерес представляют белки, содержащие анкириновые повторы, у бактерий и вирусов. На сегодняшний день определены в основном гены предполагаемых белков и только у некоторых бактерий выявлены функции этих белков. В последнее время появляются данные о возможной роли белков, содержащих анкириновые повторы, у симбиотических бактерий во влиянии на развитие хозяина, а также во влиянии на реализацию репродуктивных функций хозяина, что наблюдается у насекомых. Изучение механизмов действия и функциональной роли белков с анкириновыми повторами открывает дополнительные возможности для исследования белок-белковых взаимодействий на разных уровнях регуляции экспрессии генов.

Авторы выражают благодарность проф. И. К. Захарову и С. И. Байбородину за критическую оценку рукописи.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН 24.4 «Динамика генофондов растений, животных и человека».

Список литературы

- Батрукова М. А., Бетин В. Л., Рубцов А. М., Лопина О. Д. 2000. Анкирин: строение, свойства и функции. Биохимия. 65 (4) : 469—484.
- Almawi W. Y., Melemedjian O. K. 2002. Negative regulation of nuclear factor- κ B activation and function by glucocorticoids. J. Mol. Endocrinol. 28 : 69—78.
- Andrade Y. N., Fernandes J., Vazquez E., Fernandez-Fernandez J. M., Arniges M., Sanchez T. M. 2005. TRPV4 channel is involved in the coupling of fluid viscosity changes to epithelial ciliary activity. J. Cell Biol. 168 : 869—874.
- Andrews B. J. 1992. Gene expression. Dialogue with the cell cycle. Nature. 355 : 393—394.
- Artavanis-Tsakonas S., Matsuno K., Fortini M. E. 1995. Notch signaling. Science. 268 : 225—232.
- Axton J. M., Shamanski F. L., Young L. M., Henderson D. S., Boyd J. B., Orr-Weaver T. L. 1994. The inhibitor of DNA replication encoded by the *Drosophila* gene plutonium is a small, ankyrin repeat protein. EMBO J. 13 : 462—470.
- Baer R., Ludwig T. 2002. The BRCA1/BARD1 heterodimer, a tumor suppressor complex with ubiquitin E3 ligase activity. Curr. Opin. Genet. Develop. 12 : 86—91.
- Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S. P. 1997. Signaling in plant-microbe interactions. Science. 276 : 726—733.
- Bandell M., Story G. M., Hwang S. W., Viswanath V., Eid S. R., Petrus M. J., Early T. J., Patapoutian A. 2004. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. Neuron. 41 : 849—857.
- Beyon J., Li J., Ericson K., Selby T., Tevelev A., Kim H.-J., O'Maille P., Tsai M.-D. 1998. Tumor suppressor p16^{INK4A}: Determination of solution structure and analyses of its interaction with Cyclin-dependent kinase 4. Mol. Cell. 1 : 421—431.
- Boice J. A., Fairman R. 1996. Structural characterization of the tumor suppressor p16, an ankyrin-like repeat protein. Protein Science. 5 : 1776—1784.
- Bork P. 1993. Hundreds of ankyrin-like repeat in functionally diverse proteins: mobile modules that cross phyla horizontally? Proteins. 17 : 363—374.
- Breeden L., Nasmyth K. 1987. Similarity between cell-cycle genes of budding yeast and fission yeast and the Notch gene of *Drosophila*. Nature. 329 : 651—654.
- Carlyon J. A., Ryan D., Archer K., Fikrig E. 2005. Effects of *Anaplasma phagocytophilum* on host cell ferritin mRNA and protein levels. Infect. Immun. 73 : 7629—7636.
- Caturegli P., Asanovich K. M., Walls J. J., Bakken J. S., Madigan J. E., Popov S. 2000. Anka: an *Ehrlichia phagocytophila* group gene encoding a protein antigen with ankyrin-like repeats. Infect. Immun. 68 : 5277—5283.
- Clapham D. E., Runnels L. W., Strübing C. 2001. The TRP Ion channel I family. Nature Reviews Neuroscience. 2 : 386—396.
- Cociancich S., Bulet P., Hetru C., Hoffmann J. A. 1994. Inducible antibacterial peptides of insects. Parasitol. Today. 10 : 132—139.
- Colbert H. A., Smith T. L., Bargmann C. I. 1997. OSM-9, a novel protein with structural similarity to channels, is required for olfaction, mechanosensation and olfactory and aptation in *Caenorhabditis elegans*. J. Neurosci. 17 : 8259—8269.
- Cozzone A. J. 1998. Regulation of acetate metabolism by protein phosphorylation in enteric bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 52 : 127—164.
- Desikan R., Mackerness S., Hancock J. T., Neill S. J. 2001. Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. Plant Physiol. 127 : 159—172.
- Diaz-Guerra M., Esteban M., Martinez J. L. 1997. Growth of *Escherichia coli* in acetate as a sole carbon source is inhibited by ankyrin-like repeats present in the 2',5'-linked oligoadenylate-dependent human RNase L enzyme. FEMS Microbiol. Lett. 149 : 107—113.
- Draetta G. F. 1994. Mammalian G-cyclins. Curr. Opin. Cell Biol. 6 : 342—346.
- Dreyfus D. H., Nagasawa M., Gelfand E. W., Ghoda L. Y. 2005. Modulation of p53 activity by I κ B: evidence suggesting a common phylogeny between NF- κ B and p53 transcription factors. BMC Immunol. 21 : 6—12.
- Dumler J. S., Barbet A. F., Bekker C. P., Dasch G. A., Palmer G. H., Ray S. C. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and «HGE agent» as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51 : 2145—2165.
- Dumer J. S., Choi K. S., Garcia-Garcia J. C., Barat N. S. 2005. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. Emerg. Infect. Diseases. 11 : 1828—1834.

- Dushay M. S., Asling B., Hultmark D. 1996. Origins of immunity: Relish, a compound Rel-like gene in the antibacterial defense of *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 17 : 10 343—10 347.
- Elfring L. K., Axton J. M., Fenger D. D., Page A. W., Carminati J. L., Orr-Weaver T. L. 1997. *Drosophila* PLUTONIUM protein is a specialized cell cycle regulator required at the onset of embryogenesis. Mol. Biol. Cell. 8 : 583—593.
- Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J. 1993. Requirement for salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science. 261 : 754—756.
- Galinié A., Bleicher F., Neégre D., Perrière G., Duclos B., Cozzone A. J., Cortay J. C. 1991. Primary structure of the intergenic region between aceK and icIR in the *Escherichia coli* chromosome. Gene. 97 : 149—150.
- Genoud T., Trevino Santa Cruz M. B., Metraux J. P. 2001. Numerical simulation of plant signaling networks. Plant Physiol. 126 : 1430—1437.
- Givskov M., Olsen L., Molin S. 1988. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the gene for extracellular phospholipase A1 from *Serratia liquefaciens*. J. Bacteriol. 170 : 5855—5862.
- Hermkes R., Funke S., Richter C., Kuhlmann J., Schunemann D. 2006. The alpha-helix of the second chromodomain of the 43 kDa subunit of the chloroplast signal recognition particle facilitates binding to the 54 kDa subunit. FEBS Lett. 580 : 3107—3111.
- Howard J., Bechstedt S. 2004. Hypothesis: a helix of ankyrin repeats of the NOMPC-TRP ion channel is the gating spring of mechanoreceptors. Curr. Biol. 14 : R224—R226.
- Howell M. L., Alsabbagh E., Ma J.-F., Ochsner U. A., Klotz M. G., Beveridge T. J., Blumenthal K. M., Niederhoffer E. C., Morris R. E., Needham D., Dean G. E., Wani M. A., Hassett D. J. 2000. AnkB, a periplasmic Ankyrin-like protein in *Pseudomonas aeruginosa*, is required for optimal catalase B (KatB) activity and resistance to hydrogen peroxide. J. Bacteriol. 182 : 4545—4556.
- Hsieh T.-C., Agüero-Rosenfeld M., Wu J. M., Ng C., Papanikolou N. K., Varde S. A., Schwartz I., Pizzolo J. G., Melamed M., Horowitz H. W., Nadelman R. B., Wormser G. P. 1997. Cellular changes and induction of apoptosis in human promyelocytic HL60 cells infected with the agent of human granulocytic ehrlichiosis (HGE). Biochem. Biophys. Res. Commun. 232 : 298—303.
- Hultmark D. 1994. Insect immunology. Ancient relationships. Nature. 367 : 116—117.
- Hurst G. D., Jiggins F. M. 2000. Male-killing bacteria in insects: mechanisms, incidence, and implications. Emerging Infectious Diseases. 6 : 329—336.
- Ishikawa H., Claudio E., Dambach D., Raventós-Suárez C., Ryan C., Bravo R. 1998. Chronic inflammation and susceptibility to bacterial infections in mice lacking the polypeptide (p)105 precursor (NFκ-B1) but expressing p50. J. Exp. Med. 187 : 985—996.
- Iturbe-Ormaetxe I., Burke G. R., Riegler M., O'Neill S. L. 2005. Distribution, expression, and motif variability of ankyrin domain genes in *Wolbachia pipientis*. J. Bacteriol. 187 : 5136—5145.
- Iwabashi K., Bartel P. L., Li B., Marraccino R., Fields S. 1994. Two cellular proteins that bind to wild-type but not mutant p53. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 91 : 6098—6102.
- Jonas-Straube E., Hutin C., Hoffman N. E., Schunemann D. 2001. Functional analysis of the protein-interacting domains of chloroplast. SRP43. J. Biol. Chem. 276 : 24 654—24 660.
- Jordt S. E., Bautista D. M., Chuang H. H., McKemy D. D., Zygmunt P. M., Hogestatt E. D., Meng I. D., Julius D. 2004. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1. Nature. 427 : 260—265.
- Karppinen S.-M., Heikkinen K., Rapakko K., Winqvist R. 2004. Mutation screening of the BARD1 gene: evidence for involvement of the Cys557Ser allele in hereditary susceptibility to breast cancer. J. Med. Genet. 41 : 1—5.
- Kobayashi S., Kajino S., Takahashi N., Kanazawa S., Imai K., Hibi Y., Ohara H., Itoh M., Okamoto T. 2005. 53BP2 induces apoptosis through the mitochondrial; death pathway. Genes to Cells. 10 : 253—260.
- Krawczyk M., Reith W. 2006. Regulation of MHC class II expression, a unique regulatory system identified by the study of a primary immunodeficiency disease. J. Compilation. 67 : 183—197.
- Liedtke W., Kim C. 2005. Functionality of the TRPV subfamily of TRP ion channels: add mechano-TRP and osmo-TRP to the lexicon. Cell. Mol. Life Sci. 1 : 2—18.
- Lin J.-H., Makris A., McMahon C., Bear S. E., Patriotis C., Prasad V. R., Brent R., Golemis E. A., Tschlis P. N. 1999. The ankyrin repeat containing adaptor protein Tvl-1 is a novel substrate and regulator of Raf-1. J. Biol. Chem. 274 : 14 706—14 715.
- Loon L. C., Bakker P. A., Pieterse C. M. 1998. Systemic resistance induced by *Rhizosphere* bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36 : 453—483.
- Lux S. E., John K. M., Bennett V. 1990. Analysis of cDNA for human erythrocyte ankyrin indicates a repeated structure with homology to tissue differentiation and cell-cycle control proteins. Nature. 344 : 36—42.
- Malek S., Huang D., Huxford T., Ghosh S., Ghosh G. 2003. X-ray crystal structure of an IκB/NF-κB p65 homodimer complex. J. Biol. Chem. 278 : 23 094—23 100.
- Masternak K., Barras E., Zufferey M., Conrad B., Corthals G., Aebersold R., Sanchez J. C., Hochstrasser D. F., Mach B., Reith W. 1998. A gene encoding a novel RFX-associated transactivator is mutated in the majority of MHC class II deficiency patients. Nat. Genet. 20 : 273—277.
- Mitchell T. C., Hildeman D., Kedl R. M. 2001. Immunological adjuvant promote activated T cell survival via induction of Bcl-3. Nat. Immunol. 2 : 397—402.
- Mitchell T. C., Thompson B. S., Trent J. O., Casella C. R. 2002. A short domain within Bcl-3 is responsible for its lymphocyte survival activity. Ann. N. Y. Acad. Sci. 975 : 132—147.
- Mosavi L. K., Cammett T. J., Desrosiers D. C., Peng Z. Y. 2004. The ankyrin repeat as molecular architecture for protein recognition. Protein Sci. 13 : 1435—1448.
- Nasmyth K., Dirick L. 1991. The role of SWI4 and SWI6 in the activity of G1 cyclins in yeast. Cell. 66 : 995—1013.
- Negre D., Cortay J.-C., Galinié A., Sauve P., Cozzone A. J. 1992. Specific interactions between the IclR repressor of the acetate operon of *Escherichia coli* and its operator. J. Mol. Biol. 228 : 23—29.
- Nekrep N., Geyer M., Jabrane-Ferrat N., Peterlin B. M. 2001. Analysis of ankyrin repeats reveals how a single point mutation in RFXANK results in bare lymphocyte syndrome. Mol. Cell. Biol. 21 : 5566—5576.
- Neuwald A. F., Green P. 1994. Detecting patterns in protein sequences. J. Mol. Biol. 239 : 698—712.
- Ogas J., Andrews B. J., Herskowitz I. 1991. Transcriptional activation of CLN1, CLN2, and a putative new G1 cyclin (HCS26) by SWI4, a positive regulation of G1-specific transcription. Cell. 66 : 1015—1026.
- O'Neill S. L., Giordano R., Colbert A. M., Karr T. L., Robertson H. M. 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 89 : 2699—2702.
- Orian A., Schwartz A. L., Israe A., Whiteside S., Kahana C., Ciechanover A. 1999. Structural motifs involved in Ubiquitin-mediated processing of the NF-κB precursor p105: roles of the Glycine-rich region and a downstream ubiquitination. Domain Mol. Cell. Biol. 19 : 3664—3673.
- Park J., Kim K. J., Choi K. S., Grab D. J., Dumler J. S. 2004. *Anaplasma phagocytophilum* AnkA binds to granulocyte DNA and nuclear proteins. Cell Microbiol. 6 : 743—751.
- Petcherski A., Kimble J. 2000. LAG-3 is a putative transcriptional activator in the *C. elegans* Notch pathway. Nature. 405 : 364—368.
- Pieterse C. M., van Wees C. M., van Pelt J. A., Knoester M., Laan R., Gerrits H., Weisbeek P. J., Loon L. C. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. Plant Cell. 10 : 1571—1580.
- Pieterse C. M., van Wees S. C., Ton J., van Pelt J. A., Loon L. C. 2002. Signaling in *Rhizobacteria*-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. Plant Biol. 4 : 535—544.

- Rapp U. R. 1991. Role of Raf-1 serine/threonine protein kinase in growth factor signal transduction. *Oncogene*. 6 : 495—500.
- Salzberg S. L., Hotopp J. C., Delcher A. L., Pop M., Smith D. R., Eisen M. B., Nelson W. C. 2005. Serendipitous discovery of *Wolbachia* genomes in multiple *Drosophila* species. *Genome Biol.* 6 : R23—R23.8
- Schunemann D. 2004. Structure and function of the chloroplast signal recognition particle. *Curr. Genet.* 44 : 295—304.
- Schweizer H. P., Hoang T. T. 1995. An improved system for gene replacement and xyle fusion analysis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene*. 158 : 15—22.
- Sedgwick S. G., Smerdon S. J. 1999. The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. *Trends Biochem. Sci.* 24 : 311—316.
- Shaw K. L., Grimsley G. R., Yakovlev G. I., Makarov A. A., Pace C. N. 2001. The effect of net charge on the solubility, activity, and stability of ribonuclease Sa. *Protein Sci.* 10 : 1206—1215.
- Sidi S., Friedrich R. W., Nicolson T. 2003. NompC TRP-channel required for vertebrate sensory hair cell mechanotransduction. *Science*. 301 : 96—99.
- Stange C. 2006. Plant-virus interactions during the infective process. *Cien. Inv. Agr.* 33 (1) : 1—18.
- Stevens L., Giordano R., Fialho R. F. 2001. Male-Killing. Nematode infections, bacteriophage infection, and virulence of cytoplasmic bacteria in the genus *Wolbachia*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32 : 519—545.
- Stouthamer R., Breeuwer J. A., Luck R. F., Werren J. H. 1999. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*. 361 : 66—68.
- Subramaniam R., Desveaux D., Spickler C., Michnick S. W., Brisson N. 2000. Direct visualization of protein interactions in plant cells. *Nat. Biotechnol.* 19 : 769—772.
- Tobin D., Madsen D. M., Kahn-Kirby A., Peckol E., Moulder G., Barstead R. 2002. Combinatorial expression of TRPV channel proteins defines their sensory functions and subcellular localization in *C. elegans* neurons. *Neuron*. 35 : 307—318.
- Tracey W. D., Wilson R. I., Laurent G., Benzer S. 2003. Painless, a *Drosophila* gene essential for nociception. *Cell*. 113 : 261—273.
- Vazquez G., Wedel B. J., Aziz O., Trebak M., Putney J. W. 2004. The mammalian TRPC cation channels. *Biochim. biophys. acta*. 1742 : 21—36.
- Vriens J., Owsianik G., Voets T., Droogmans G., Nilius B. 2004. Invertebrate TRP protein as functional models for mammalian channels. *Eur. J. Physiol.* 449 : 213—226.
- Walker R. G., Willingham A. T., Zuker C. S. 2000. *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science*. 287 : 2229—2234.
- Wedel B. J., Vazquez G., McKay R. R., Bird G., Putney J. W. 2003. Acalmodulin/inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) receptor-binding region targets TRPC3 to the plasma membrane in a calmodulin/IP3 receptor-independent process. *J. Biol. Chem.* 278 : 25 758—25 765.
- Zhou S., Fujimuro M., Hsien J. J.-D., Chen L., Miyamoto A., Weinmaster G., Hayward S. D. 2000. SKIP, a CBF1-associated protein, interacts with ankyrin repeat domain of Notch1C to facilitate Notch1C function. *Mol. Cell. Biol.* 20 : 2400—2410.

Поступила 19 III 2007

FUNCTIONAL ROLE OF PROTEINS CONTAINING ANKYRIN REPEATS

D. A. Voronin, E. V. Kiseleva

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS, Novosibirsk;
e-mail: elka@bionet.nsc.ru

This review describes and discusses new data about the structure and function of proteins which contain ankyrin-like repeats in their structure. These proteins have been found in cells of different organisms but they are not belonging to the cytoskeletal proteins. Many important functions of such proteins are provided by ankyrin repeats which maintain protein-protein interactions involved in the formation of transcription complexes, initiation of immuno-responses, biogenesis and assembly of cation channels in the membranes, regulation of some cell cycle stages, symbiotic interactions and many other processes. Mutations in genes encoding ankyrin-like proteins can cause defects in gene expression leading to diseases onset and progression in animals and humans. Therefore, the structure, dynamics and function of these proteins is an area of extensive research in modern biology.

Key words: proteins containing ankyrins repeats, protein-protein interaction, regulation of gene expression, regulation of cell cycle, eukaryotes, prokaryotes.