СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЭУКАРИОТ

© *А. О. Шпаков*

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес: alex_shpakov@list.ru

Аденилатциклазы (АЦ) — ферменты, катализирующие образование вторичного посредника цАМФ, в настоящее время выявлены у дрожжевых и родственных им грибов, амебы *Dictyostelium discoideum*, жгутиконосцев, малярийного плазмодия, инфузорий. Однако их структурно-функциональная организация и молекулярные механизмы регуляции в значительной степени различаются. Так, у жгутиконосцев выявлены десятки структурно близких АЦ, один раз пронизывающих мембрану и наделенных рецепторными функциями. У амебы *D. discoideum* обнаружены три типа АЦ, которые принципиально различаются по своей топологии, доменной организации и чувствительности к регуляторным молекулам и физическим факторам, причем одна из них (АЦ-А) близка к мембранно-связанным АЦ млекопитающих и может регулироваться внеклеточным цАМФ. В свою очередь у дрожжевых грибов выявлены ферменты, не имеющие трансмембранных доменов, но способные образовывать межмолекулярные комплексы, стабилизированные взаимодействиями между повторяющимися участками, обогащенными остатками лейцина. Представленные в обзоре данные свидетельствуют о том, что основные молекулярные механизмы, лежащие в основе функционирования АЦ позвоночных животных, сформировались еще на уровне одноклеточных организмов и грибов. При этом структура и функции АЦ низших эукариот намного разнообразнее, что может быть связано как с особенностями их жизненного цикла, так и с апробацией на начальных этапах эволюции различных моделей функционирования и регуляции цАМФ-зависимых сигнальных каскадов.

Принятые сокращения: АКО — аминокислотный остаток, АКП — аминокислотная последовательность, АЦ — аденилатциклаза, ГЦ — гуанилатциклаза, МАПК — митогенактивируемая протеинкиназа, ПКА — цАМФ-зависимая протеинкиназа, ТМД — трансмембранный домен.

Суперсемейство аденилатциклаз (АЦ) включает в себя по крайней мере шесть классов ферментов, которые длительное время эволюционировали независимо друг от друга и вследствие этого сильно различаются по своей первичной структуре, в том числе в пределах сравнительно консервативных сайтов, ответственных за катализируемую АЦ реакцию превращения АТФ в цАМФ. Несмотря на то что эти шесть классов широко представлены у прокариот, все АЦ эукариот — как одноклеточных, так и многоклеточных — возникли из бактериальных АЦ, относящихся к классу III. По своей локализации в клетке АЦ класса III делятся на две большие группы — мембранно-связанные формы фермента, представляющие собой белковые молекулы, один раз или более пронизывающие плазматическую мембрану, и растворимые (цитозольные) его формы.

Функциональная важность АЦ для жизнедеятельности клетки и их ключевое положение в большинстве сигнальных каскадов определяются тем, что синтезируемый ферментом цАМФ регулирует такие фундаментальные клеточные процессы, как рост, метаболизм, дифференцирование и апоптоз, в клетках животных различного филогенетического уровня. В основе этого процесса лежит специфическое взаимодействие циклического нуклеотида с цАМФ-зависимыми протеинкиназами (ПКА), цАМФ-регулируемыми ионными каналами, цАМФ-фосфодиэстеразами, факторами обмена гуаниновых нуклеотидов Rap и другими эффекторными и регуляторными белками. Вследствие этого изучение АЦ, контролирующих функциональную активность цАМФ-зависимых сигнальных путей, является одной из актуальных задач современной биохимии и молекулярной эндокринологии.

Предметом настоящего обзора являются АЦ одноклеточных эукариот — дрожжевых и родственных им грибов, амебы *Dictyostelium discoideum*, жгутиконосцев, энтероамебы и инфузорий, малярийного плазмодия *Plasmodium falciparum*. Исследование структуры и функций АЦ одноклеточных позволяет проследить те переломные этапы эволюции этих ферментов, в ходе которых осуществлялась «подгонка» их структурно-функциональной организации к возросшим в сравнении с прокариотами потребностями эукариотической клетки и закладывались основы формирования молекулярных механизмов регуляции функциональной активности АЦ гормональными и негормональными агентами, достигшей совершенства у высших позвоночных животных.

АЦ одноклеточных эукариот, основываясь на результатах кластерного анализа их каталитических доме-

нов, можно распределить на четыре подкласса (Baker, Kelly, 2004a). Первый подкласс «эукариотических» циклаз включает в себя две формы АЦ амебы *D. discoideum* (АЦ-А и АЦ-G), каталитические домены которых сходны с таковыми циклаз высших эукариот, и АЦ Rv1625c бактерии *Mycobacterium tuberculosis*, которая высокогомологична мембранно-связанным АЦ млекопитающих и, как считают, появилась в геноме бактерии вследствие горизонтального переноса генов. Ко второму подклассу «прокариотических» циклаз относятся родственные бактериальным циклазам АЦ плазмодия *P. falciparum* (PfA - Cα) и хламидомонады *Chlamydomonas reinhardtii*, а также АЦ-B D. discoideum. Третий подкласс «растворимых» циклаз включает в себя цитозольную форму АЦ PfACβ *P. falciparum*. И наконец, к четвертому подклассу, объединяющему ферменты, сходные с циклазами грибов, относятся мембранно-связанные формы АЦ жгутиконосцев — трипаносом (*Trypanosoma cruzi*, *T. brucei* и *T. congolense*), лейшмании *Leishmania donovani* и эвглены *Euglena gracilis*, а также АЦ дрожжевых (*Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* и *Candida albicans*) и родственных им грибов — аскомицетов *Neurospora crassa* и *Magnaporthe grisea*, базидиомицетов *Ustilago maydis* и *Cryptococcus neoformans*. Следует, однако, отметить, что представленная классификация не соответствует топологии циклаз в мембране, а также не учитывает особенностей молекулярных механизмов регуляции их функциональной активности, как это имеет место, например, в случае АЦ-G *D. discoideum*, которая по ряду признаков ближе к АЦ жгутиконосцев, чем АЦ-А *D. discoideum*.

Аденилатциклазы амебы *Dictyostelium discoideum*

У амебы *D. discoideum* обнаружены три типа АЦ — АЦ-А, АЦ-G и АЦ-B, которые кодируются генами *acaA*, *acgA* и *acrA* и принципиально отличаются друг от друга как по структурно-функциональной организации, так и по молекулярным механизмам регуляции и экспрессии в клетке (Saran et al., 2002; Kriebel, Parent, 2004; Manahan et al., 2004).

Аденилатциклаза А. АЦ-А *D. discoideum* по своей структуре и топологии в мембране обладает значительным сходством с мембранно-связанными АЦ позвоночных животных. Она также содержит 12 трансмембранных доменов (ТМД), которые объединены в два блока (по 6 ТМД в каждом), и 2 значительных по размеру цитоплазматических домена C1 (аминокислотная последовательность 378—722) и C2 (1143—1361), наделенных циклазной активностью и обладающих высокой степенью гомологии по отношению к каталитическим доменам АЦ млекопитающих (Parent et al., 2002; Шпаков и др., 2003a; Baker, Kelly, 2004a).

Основной функцией АЦ-А является обеспечение агрегации индивидуальных амеб в многоклеточное образование в ответ на регуляторное влияние хемоаттрактанта — внеклеточного цАМФ. цАМФ-сигнал генерируется амебами *D. discoideum*, расположенными в центрах агрегации, и передается на соседние с ними клетки, которые поляризуются и начинают движение к центрам агрегации по возрастающему градиенту концентрации цАМФ. Внеклеточный цАМФ специфически опознается с помощью цАМФ-рецепторов, через которые осуществляется стимуляция активности АЦ-А. У амебы выявлены четыре типа цАМФ-рецепторов (CAR1—CAR4). Все они относятся к рецепторам серпантинного типа, функционально сопряжены с гетеротримерными G-белками, сходны по своей структурно-функциональной организации, но различаются по аффинности к цАМФ и уровню экспрессии в различные стадии жизненного цикла амебы. В ответ на стимуляцию внеклеточным цАМФ АЦ-А синтезирует дополнительные количества циклического нуклеотида и, таким образом, многократно усиливает первоначальный сигнал, который передается на соседние клетки. Наряду с стимуляцией АЦ-А, ведущей к повышению уровня внеклеточного цАМФ, запускается и обратный процесс, заключающийся в активации цАМФ-фосфодиэстеразы, которая гидролизует внеклеточный цАМФ и прерывает цАМФ-зависимую активацию АЦ-А (Parent, Devreotes, 1999). Сигнал, генерируемый цАМФ, обеспечивает движение амеб как на стадии их агрегации, так и на других стадиях жизненного цикла, являясь также важнейшим регулятором экспрессии генов, ответственных за процессы развития и дифференцирования *D. discoideum* (Firtel 1996; Dornmann et al., 2001).

Сигнальный каскад, через который внеклеточный цАМФ стимулирует функциональную активность АЦ-А, включает в себя следующие основные звенья: цАМФ (хемоаттрактант) ⇒ цАМФ-рецептор ⇒ гетеротримерный Gα2βγ-белок (Gβγ-димер) ⇒ Ras-белок ⇒ фосфатидилинозитол-3-киназа ⇒ белок CRAC ⇒ АЦ-А ⇒ цАМФ (вторичный посредник) (Dornmann et al., 2001; Lim et al., 2001; Saran et al., 2002; Comer, Parent, 2006) (рис. 1). Стимуляция фосфатидилинозитол-3-киназы в этом каскаде ведет к синтезу 3-фосфоинозитидов, которые связываются с плекстрин-гомологичным доменом белка CRAC (cytosolic regulator of adenylyl cyclase) и способствуют его эффективному взаимодействию с АЦ-А (Funamoto et al., 2002; Comer et al., 2005). Уникальность этого сигнального каскада состоит в том, что роль и первичного, и вторичного посредников в нем выполняет одно и то же вещество — цАМФ. В активации АЦ-А участвует и ряд других сигнальных белков, место которых в сигнальном каскаде и молекулярные механизмы действия в настоящее время интенсивно изучаются. Среди них фактор Pianissimo (Chen et al., 1997), белок Rip3, взаимодействующий с Ras-белком (Lee et al., 1999, 2005), белок RasEGF, являющийся фактором обмена гуаниновых нуклеотидов Ras-белка (Insall et al., 1996), митогенактивируемая протеинкиназа ERK2 (Segall et al., 1995).

Транслируемый 3-фосфоинозитидами сигнал прерывается с помощью 3-фосфоинозитид-специфичной фосфатазы PTEN, которая является одним из негативных регуляторов активации АЦ-А внеклеточным цАМФ (Brzostowski et al., 2004; Comer, Parent, 2006). У *D. discoideum* имеются и другие сигнальные белки, вызывающие ингибирование активности АЦ-А, что лежит в основе функционирования механизма адаптации. Один из них — гетеротримерный Gα9βγ-белок, который, так же как и Gα2βγ-белок, функционально сопряжен с цАМФ-рецептором 1-го типа (Brzostowski et al., 2002). Следовательно, связывание цАМФ с рецептором вызывает как стимуляцию (через Gα2βγ-белок), так и ингибирование (через Gα9βγ-белок) активности АЦ-А. Соотношение стимулирующего и ингибирующего путей регуляции фермента определяется как продолжительностью воздействия цАМФ на клетку и его концентрацией во внеклеточной среде, так и стадией жизненного цикла *D. discoide-*

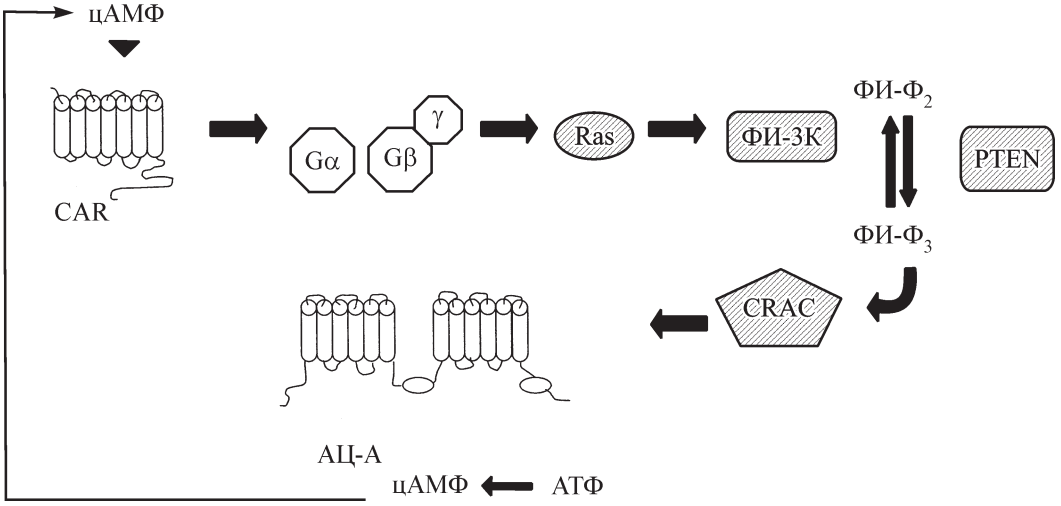

Рис. 1. Регуляция хемоаттрактантом цАМФ активности аденилатциклазы типа А (АЦ-А) *Dictyostelium discoideum*, реализуемая с участием рецепторов серпантинного типа и гетеротримерных G-белков.

CAR — цАМФ-рецептор; Gα, Gβ и γ — субъединицы гетеротримерного Gα2βγ-белка; Ras — малый Ras-белок; ФИ-3К — фосфатидилинозитол-3-киназа; ФИ-$Ф_2$ и ФИ-$Ф_3$ — фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат и фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат; PTEN — 3-фосфоинозитид-специфичная фосфатаза; CRAC — белок CRAC (cytosolic regulator of adenylyl cyclase).

um, поскольку гены, кодирующие белки — компоненты цАМФ-зависимых сигнальных каскадов, — на разных стадиях экспрессируются в различной степени.

Основная функция АЦ-А заключается в обеспечении агрегации амеб в многоклеточные образования с дальнейшим их дифференцированием и формированием плодового тела. В мутантных линиях *D. discoideum* с функционально неактивным ферментом полностью блокирован синтез цАМФ, вызываемый внеклеточным цАМФ, нарушены процессы агрегации амеб, формирования ими плодового тела и спорообразования. Способность мутантных клеток *D. discoideum* к агрегации и образованию спор восстанавливается в присутствии клеток дикого типа, имеющих функционально активную АЦ-А (Pitt et al., 1993).

В N-концевой области С1-домена АЦ-А локализованы участки, которые ответственны за взаимодействие с белком CRAC, регулирующим активность фермента. В это взаимодействие также может быть вовлечена спираль с гептадной периодичностью (регулярная спираль) 373—400 АЦ-А, которая, согласно нашим расчетам, включает в себя 4 гептады и склонна к образованию суперспиральных структур (P_{cc} 1.94). Замена Leu^{394} в этой спирали на остатки серина, треонина, аланина, изолейцина, глицина или аргинина ведет к АЦ-А с аномально высокой базальной активностью (Parent, Devreotes, 1995, 1996; Parent et al., 2002). Точечные мутации в N-концевой области (L405S, F421S и K482N) приводят к форме АЦ-А, которая не регулируется белком CRAC и функционально не сопряжена с гетеротримерными G-белками (Parent, Devreotes, 1995, 1996). В свою очередь двойная замена L394T/K482N, с одной стороны, приводит к многократному снижению базальной активности фермента, резко повышенной для АЦ-А с заменой L394T, и вызывает восстановление функционального сопряжения мутантной АЦ-А и с G-белками, нарушенного для фермента с заменой K482N, — с другой. Таким образом, замены L394T и K482N в определенной степени компенсируют друг друга.

Сравнение первичных структур 431—680 С1-домена АЦ-А и каталитических С1- и С2-доменов АЦ 2-го типа млекопитающих позволило выявить два блока гомологичных аминокислотных последовательностей (АКП), которые соответствуют наиболее консервативным сегментам в АЦ млекопитающих, участвующим во взаимодействии с $Gα_s$-субъединицей и дитерпеном форсколином, негормональным активатором фермента, а также обеспечивают функциональное взаимодействие между каталитическими доменами фермента (Шпаков и др., 2003а). При этом N-концевые участки С1-домена АЦ-А структурно близки к С1-домену АЦ млекопитающих, в то время как С-концевые участки обладают значительной гомологией с их С2-доменом, причем как раз в области Gβγ-связывающего участка. Суммируя полученные данные, можно предположить, что С1-домены АЦ-А *D. discoideum* представляют собой гибрид из двух каталитических доменов АЦ 2-го типа млекопитающих.

Следует отметить, что в центральной части С1-домена АЦ-А локализована протяженная АКП, обогащенная остатками аспарагина, отсутствующая в АЦ млекопитающих, которая имеет высокую склонность к формированию спиралей, склонных к образованию суперспиральных структур. Спираль-спиральные контакты могут быть основой функционального взаимодействия АЦ-А с другими сигнальными белками, тем более что многие из них также содержат регулярные спирали. Такие спирали, в частности, локализованы в С-концевых участках цАМФ-рецепторов и в N-концевом участке 51—226 CAP-белка *D. discoideum*, который вовлечен во взаимодействие с молекулой АЦ-А (Ksiazek et al., 2003; Mavoungou et al., 2004). Функция CAP-белка заключается в динамической перестройке актинового цитоскелета клетки *D. discoideum* в ответ на стимуляцию АЦ-А внешними сигналами.

Сравнительный анализ С2-домена АЦ-А показывает, что этот домен обладает высокой гомологией по отношению к С2-доменам мембранно-связанных АЦ высших эукариот и каталитическим доменам бактериальных циклаз, кодируемых генами, привнесенными в геномы бактерий из геномов позвоночных животных. Так, при выравнивании С2-домена АЦ-А и С2-доменов АЦ 1, 5, 6 и 9-го типов позвоночных идентичность АКП составляет

34—38 %, а при сравнении АКП 1181—1400 АЦ-А, включающей в себя также С-концевой регуляторный участок молекулы фермента, с АКП 896—1139 АЦ моллюска *Aplysia californica* — 32 %. При сравнении АКП 1185—1359 АЦ-А с АКП бактериальных циклаз 247—425 АЦ *M. tuberculosis* и 239—418 АЦ *Methylobacillus flagellatus* идентичность достигает 39—40 %.

Аденилатциклаза G. Экспрессия гена *acgA*, кодирующего АЦ-G, выявляется только на стадии созревания спор, а сам фермент активно функционирует в спорах, находящихся в состоянии покоя, обеспечивая высокий уровень внутриклеточного цАМФ (Virdy et al., 1999). Функциональная активность АЦ-G зависит от осмомолярности внеклеточной жидкости и стимулируется высокими концентрациями солей и сахаров, в частности 100 мМ фосфатом аммония (Cotter et al., 1999). Активация АЦ-G в условиях высокой осмомолярности и следующая за этим стимуляция ПКА приводят к блокированию развития и прорастания спор. У мутантных линий *D. discoideum*, лишенных АЦ-G, повышение осмомолярности не влияет на эти процессы (Van Es et al., 1996). Таким образом, АЦ-G выполняет функцию осмотического сенсора. Следует отметить, что у *D. discoideum* имеется еще один фермент — гистидинкиназа DokA, выполняющий сходную функцию. Влияние осмотического стресса на DokA приводит к повышению внутриклеточного уровня цАМФ. Однако причиной этого является не активация АЦ-G, а ингибирование цАМФ-фосфодиэстеразы RegA, которая осуществляет гидролиз циклического нуклеотида (Ott et al., 2000). АЦ-G функционально не связана с гетеротримерными G-белками, на что указывают ее нечувствительность к гуаниновым нуклеотидам и отсутствие регуляции фермента внеклеточным цАМФ через сопряженные с G-белками цАМФ-рецепторы.

Молекула АЦ-G имеет N-концевую гидрофобную сигнальную последовательность 19—41, необходимую для посттрансляционного процессинга молекулы фермента в эндоплазматическом ретикулуме, и один ТМД 328—349. В соответствии с этой топологической моделью АЦ-G один раз пронизывает плазматическую мембрану. АКП 42—327 фермента образует внеклеточный домен, в то время как АКП 350—858 локализована в цитоплазме, о чем свидетельствует расположенный в N-конце этой последовательности кластер положительно заряженных аминокислотных остатков (АКО) — RKQKSLIAKIMREK$^{352—365}$, типичный для цитоплазматических расширений ТМД интегральных белков. В N-концевой половине протяженного цитоплазматического домена расположен циклазный домен 396—526, функция которого заключается в синтезе внутриклеточного цАМФ в ответ на внеклеточные сигналы. С-концевая область цитоплазматического домена содержит обогащенные остатками аспарагина участки, способные формировать спираль-спиральные структуры, которые по аналогии с АЦ-А могут быть вовлечены в образование межмолекулярных комплексов. Внеклеточная петля АЦ-G представлена CHASE-доменом (86—317), обнаруженным во внеклеточных петлях цитокинового рецептора Cre1 растений и рецепторной гистидинкиназы DhkA *D. discoideum*, а также в других рецепторподобных белках и ферментах — генераторах циклических нуклеотидов бактерий и эукариот (Mougel, Zhulin, 2001).

По своей топологии в мембране и доменной организации АЦ-G имеет черты сходства как с рецепторной гуанилатциклазой (ГЦ) млекопитающих, так и с мембранно-связанными АЦ жгутиконосцев *Trypanosoma* и *Leishmania*, которые один раз пронизывают мембрану и имеют цитоплазматический циклазный домен (Saran, Schaap, 2004). Однако в ГЦ млекопитающих (рецептор натрийуретического пептида) в отличие от АЦ-G между ТМД и циклазным доменом располагаются киназа-гомологичный домен (KHD, kinase homology domain) и протяженный участок, способный к образованию суперспиральных структур, которые обеспечивают образование димерной формы циклазы (Labrecque et al., 2001). Ряд различий имеется и между молекулами АЦ-G *D. discoideum* и АЦ жгутиконосцев. Во-первых, внеклеточные домены АЦ *Trypanosoma* и *Leishmania* значительно больше по размерам. Во-вторых, изолированные каталитические домены АЦ жгутиконосцев обладают каталитической активностью. В-третьих, эти домены способны к димеризации, причем в случае АЦ *T. brucei* GRESAG4.4B каталитическая активность димерной формы фермента намного превосходит таковую мономерной его формы (Naula et al., 2001; Seebeck et al., 2001). В то же время изолированные каталитические домены АЦ-G самостоятельно не способны образовывать димеры и не обладают каталитической активностью (Saran, Schaap, 2004). Для образования функционально активного димера требуются другие домены — либо внеклеточный CHASE-домен, либо С-концевой, способный к формированию спираль-спиральных структур. Показано, что АЦ-G, лишенная циклазного домена, сохраняет способность к димеризации с полноразмерной молекулой фермента, действуя при этом как ингибитор ферментативной активности (Saran, Schaap, 2004). Эти данные не только демонстрируют, что каталитические домены не играют определяющей роли в стабилизации димерной формы АЦ-G, но и свидетельствуют о том, что функционально активный фермент представляет собой димер с двумя полноценными каталитическими доменами. Следует также подчеркнуть, что димеризация АЦ-G не является прямым следствием повышения осмомолярности, а включает какие-то более сложные механизмы, в настоящее время мало изученные.

Аденилатциклаза B. В процессе роста амебы ген *acrA*, кодирующий АЦ-B, экспрессируется в очень незначительной степени, но уже через 4 ч после лишения амеб пищевых ресурсов экспрессия этого гена резко возрастает и сохраняется на высоком уровне до стадии формирования плодового тела (Soderbom et al., 1999; Anjard et al., 2001). Активность АЦ-B, так же как и АЦ-G, не стимулируется гуаниновыми нуклеотидами, что может указывать на отсутствие сопряжения этой формы фермента с гетеротримерными G-белками. Она нечувствительна к цАМФ, что исключает ее функциональную связь с цАМФ-рецепторами. В то же время АЦ-B более эффективно стимулируется катионами магния в сравнении с катионами марганца, что отличает ее от АЦ-А *D. discoideum* и других АЦ, относящихся к классу III циклаз.

В отличие от АЦ-А, определяющей внеклеточный уровень цАМФ, АЦ-B, так же как и АЦ-G, регулирует внутриклеточный уровень этого циклического нуклеотида и активность ПКА, от которой зависит протекание процессов дифференцирования клеток амебы и образования спор (Soderbom et al., 1999; Anjard et al., 2001). Накопление цАМФ внутри клетки, вызываемое АЦ-B, приводит к запуску компенсаторного механизма, снижающего уровень цАМФ, в основе которого лежит активация цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы RegA (Kim et al., 1998; Saran et al., 2002).

Молекула АЦ-В имеет протяженный гидрофобный N-концевой участок, формирующий предположительно два ТМД, что обеспечивает ассоциацию фермента с мембраной. Вслед за этим участком расположен протяженный домен (645—893), гомологичный каталитическому домену гистидинкиназы DhkA *D. discoideum* и гистидинкиназным доменам АЦ цианобактерий (Soderbom et al., 1999). В настоящее время функции гистидинкиназного домена АЦ-В остаются неизвестными. Не выяснено также, является ли этот домен функционально активным, тем более что в нем отсутствует остаток гистидина, который является мишенью для фосфорилирования и локализован в высококонсервативных Н-мотивах других гистидинкиназ. Менее консервативны в АЦ-В и другие мотивы — N, G1, F и G2, ответственные за гистидинкиназную активность. Вслед за гистидинкиназным в молекуле АЦ-В расположен регуляторный домен (988—1080), который также присутствует в молекулах гистидинкиназ DhkA и АЦ цианобактерий и участвует в регуляции ферментативной активности гистидинкиназного домена. В регуляторном домене АЦ-В высококонсервативные мотивы D и K сохранены. Это может указывать на возможность прямого взаимодействия между АЦ-В и гистидинкиназами DhkA и DhkC, которые участвуют в регуляции активности цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы RegA.

Циклазный домен (1558—1748) расположен в С-концевой половине АЦ-В и высокогомологичен по отношению к циклазным доменам АЦ цианобактерий и циклазному домену АЦ-G *D. discoideum*. В наибольшей степени гомология выявляется в участках, формирующих каталитический сайт фермента (Soderbom et al., 1999). Следует отметить, что среди АЦ цианобактерий имеются формы, сходные с АЦ-В по своей структурно-функциональной организации, например АЦ *Spirulina platensis* и *Anabena spirulensis*. Они, так же как и АЦ-В, включают в себя последовательно расположенные гистидинкиназный, регуляторный и циклазный домены, каждый из которых обладает значительной гомологией по отношению к соответствующему домену АЦ-В. Следовательно, ГЦ-В амебы и АЦ цианобактерий произошли из общего анцестрального гена, который кодировал гибридный белок, совмещающий в себе функции двух ферментов — гистидинкиназы и АЦ. Необходимо отметить, что циклазный домен АЦ-В гомологичен циклазным доменам ГЦ позвоночных животных. Однако распределение в нуклеотидсвязывающем сайте фермента АКО, который определяет специфичность его взаимодействия с пуриновыми нуклеотидами — АТФ или ГТФ, свидетельствует о том, что субстратом для АЦ-В служит именно АТФ, а продуктом ферментативной реакции является цАМФ, а не цГМФ (Soderbom et al., 1999).

Аденилатциклазы жгутиконосцев

В геномах жгутиконосцев — трипаносом *T. brucei*, *T. cruzi*, *T. congolense* и *T. equiperdum* (Ross et al., 1991; Alexandre et al., 1996; Taylor et al., 1999; Naula et al., 2001), а также лейшмании *L. donovani* (Sanchez et al., 1995) обнаружено значительное число генов, кодирующих мембранно-связанные формы АЦ, которые по своей структурно-функциональной организации близки к рецепторoподобным ГЦ. Так, в геноме трипаносомы *T. brucei* выявлено более 100 генов, кодирующих АЦ, часть из которых в настоящее время охарактеризована (Seebeck et al., 2001). Первый из них, *esag4* (*for expression site associated gene 4*), экспрессируется только у трипаносом, находящихся в кровяном русле. Гены *gresag4.1*, *4.2*, *4.3*, *4.4a* и *4.4b* (*for genes related to esag4*) экспрессируются у паразитов, находящихся как в кровяном русле, так и в проциклической фазе развития. Ген *gresag4.1* представлен семейством, которое насчитывает по крайней мере девять копий, ген *gresag4.4b* имеет шесть копий, в то время как, например, ген *gresag4.3* уникален (Alexandre et al., 1996; Naula et al., 2001).

Предполагают, что множественность генов АЦ у жгутиконосцев определяется по крайней мере двумя причинами. Первая из них состоит в том, что паразитирующие в организме позвоночных трипаносомы на протяжении жизненного цикла претерпевают существенные морфологические изменения, соответствующие различным этапам их дифференцирования — процесса, который непосредственно зависит от уровня внутриклеточного цАМФ, продукта катализируемых АЦ реакций. Так, цАМФ контролирует трансформацию эпимастигот в патогенные метациклические трипомастиготы в случае *T. cruzi* (Fraidenraich et al., 1993), а также превращение удлиненных форм *T. brucei*, находящихся в кровяном русле зараженного человека, в укороченные формы, адаптированные к переносу паразита в организм насекомого — мухи-цеце (Vassella et al., 1997). Для тонкой регуляции процессов дифференцирования и трансформации трипаносом необходима последовательная активация нескольких типов АЦ, причем функциональная активность ферментов зависит от стадии жизненного цикла и может меняться в широких пределах (Rolin et al., 1993).

Вторая причина множественности АЦ связана с тем, что эти ферменты могут одновременно выполнять функцию рецептора, который специфично связывается с внеклеточными лигандами, и эффекторного белка, осуществляющего синтез вторичного посредника цАМФ внутри клетки. В пользу наличия у АЦ жгутиконосцев рецепторной функции свидетельствуют следующие факты. Во-первых, у *Trypanosoma* и *Leishmania* не выявлено классических форм рецепторов серпантинного типа, сопряженных с G-белками, вследствие чего функцию рецепторов должны выполнять какие-то другие белки, которыми, вероятно, и являются молекулы АЦ. Во-вторых, внеклеточные домены АЦ жгутиконосцев сильно различаются по структуре, что характерно для лигандсвязывающих доменов рецепторов. Вариабельность структуры внеклеточных доменов АЦ предопределяет их способность специфично взаимодействовать с лигандами. Следует подчеркнуть, что в АКП этих доменов локализованы высококонсервативные остатки цистеина, которые образуют дисульфидные мостики и, как можно предположить, необходимы для стабилизации функционально активной конформации лигандсвязывающего сайта. Наличие высококонсервативных остатков цистеина в лигандсвязывающих участках сближает внеклеточные домены АЦ *Trypanosoma* и *Leishmania* с таковыми рецепторов как серпантинного, так и тирозинкиназного типов высших позвоночных животных. В-третьих, для достижения высокого уровня циклазной активности наряду с димеризацией каталитических доменов двух молекул АЦ необходимо связывание внеклеточного домена АЦ с лигандом, что свидетельствует о совмещении в АЦ жгутиконосцев функций фермента и сопряженного с ним рецептора (Naula et al., 2001). В-четвертых, в пользу рецеп-

торной функции свидетельствует и отчетливая структурно-функциональная гомология между АЦ жгутиконосцев и мембранно-связанными формами ГЦ высших позвоночных, которые действуют как рецепторы и специфично связываются с натрийуретическим фактором, термостабильным энтеротоксином *Escherichia coli* и хемотактическими пептидами морского ежа. В этой связи следует отметить, что рецепторная ГЦ, обнаруженная у нематоды *Caenorhabditis elegans*, представляет собой новый тип одорантных рецепторов (Yu et al., 1997).

Все типы АЦ *T. brucei* являются интегральными белками, один раз пронизывающими плазматическую мембрану. При этом во всех типах фермента, кроме GRESAG4.2, имеется сигнальная N-концевая последовательность, которая также способна формировать ТМД, но, вероятно, удаляется в ходе процессинга молекулы. АЦ *T. brucei* имеют значительные по размерам внеклеточные домены длиной около 800 АКО (исключение составляет GRESAG4.2, внеклеточный домен которой содержит всего 225 АКО) и цитоплазматические домены размером от 320 до 360 АКО, наделенные каталитической активностью. АЦ *T. cruzi* обладает структурным сходством с ферментами *T. brucei*: располагает большим внеклеточным доменом, один раз пронизывает мембрану и имеет гидрофобную N-концевую АКП (Taylor et al., 1999). В молекуле АЦ *T. congolense*, так же как и в АЦ GRESAG4.2 *T. brucei*, отсутствует гидрофобная АКП на N-конце, а внеклеточный домен уменьшен до 340 АКО (Alexandre et al., 1996). АЦ *T. equiperdum* отличается по своей структурной организации от АЦ других трипаносом — располагает небольшим внеклеточным доменом (60 АКО) и сравнительно большим цитоплазматическим доменом (390 АКО) (Ross et al., 1991).

Каталитические домены АЦ трипаносом высокогомологичны циклазным доменам АЦ млекопитающих. Однако в отличие от АЦ высших эукариот вблизи каталитического сайта АЦ трипаносом локализован уникальный участок — δ-субдомен, который предположительно включен в аллостерическую регуляцию ферментативной активности АЦ. В мономерном состоянии молекула АЦ неактивна, как это показано для GRESAG4.1 и 4.3 (Bieger, Essen, 2001). В процессе димеризации каталитические домены молекул АЦ сближаются и меняют взаимную ориентацию, что приводит к резкому повышению их каталитической активности. Поскольку самостоятельно каталитические домены АЦ трипаносом димеризуются плохо, необходимы специальные молекулярные механизмы, обеспечивающие образование прочного комплекса между ними. Присоединение к N-концу изолированного каталитического домена АЦ *T. brucei* GRESAG4.4B последовательности, кодируемой геном *gcn4 S. cerevisiae*, обладающей выраженной способностью к образованию прочных суперспиральных структур, приводит к спонтанной димеризации рекомбинантных каталитических доменов и появлению у них ферментативной активности (Naula et al., 2001). Следует, однако, отметить, что выявленная вследствие димеризации активность изолированных каталитических доменов сравнительно низка и для эффективной стимуляции фермента необходима полноразмерная молекула АЦ, внеклеточный домен которой связан с лигандом. Таким образом, реализация рецепторной функции АЦ, заключающейся в связывании фермента с эндогенным лигандом, является тем молекулярным механизмом, который активирует АЦ и запускает цАМФ-зависимый сигнальный каскад у трипаносом.

В структуре всех известных типов АЦ трипаносом отсутствуют участки, которые могут быть вовлечены во взаимодействие с гетеротримерными G-белками. Это согласуется с тем, что необходимости в таком сопрягающем компоненте, каким является G-белок, в сигнальной системе, где функции рецептора и эффектора совмещены в одной молекуле, нет.

У автотрофного жгутиконосца *E. gracilis* обнаружены светочувствительные формы АЦ, которые осуществляют регуляцию поведенческих реакций эвглен в ответ на световое воздействие (Iseki et al., 2002; Ntefidou et al., 2003). Светочувствительные АЦ *E. gracilis*, с одной стороны, включены в реализацию процесса фототаксиса, который представляет собой ориентированное движение простейших либо к источнику света (положительный фототаксис), либо в противоположном направлении (отрицательный фототаксис), и, с другой, участвуют в регуляции присущего эвгленам фотофобного ответа, который усиливается при внезапном повышении интенсивности светового потока, являясь, таким образом, защитной реакцией простейших в условиях жесткого внешнего воздействия, и, наоборот, ослабляется в случае его внезапного снижения. Следует отметить, что у родственного эвглене жгутиконосца *Astasia longa*, который в отличие от *E. gracilis* не обладает системой фотосинтеза, также выявлена светочувствительная АЦ, которая вовлечена в фотофобный ответ, заключающийся в движении *A. longa* в направлении от источника света (Ntefidou et al., 2003). Это свидетельствует в пользу присутствия в клетках *A. longa* регулируемых светом форм АЦ, характерных для фотосинтезирующих жгутиконосцев.

Светочувствительные АЦ эвглены по аналогии с АЦ трипаносом представляют собой комбинированные молекулы, которым присущи функции и рецептора, и эффектора. АЦ *E. gracilis* представляют собой гетеротетрамерный комплекс, состоящий из двух α- и двух β-субъединиц. Каждая субъединица включает в себя внеклеточный домен, ответственный за рецепторную функцию, который содержит два флавинсвязывающих сайта и родствен рецепторам голубого света у других организмов. Наряду с этим в цитоплазматической части каждой субъединицы локализованы два каталитических циклазных домена, обладающих сходством первичной структуры с каталитическими доменами бактериальных АЦ. Возбуждение рецепторного компонента АЦ голубым светом с максимумами при длинах волн 370 и 450 нм вызывает активацию циклазных доменов, следствием чего является повышение уровня внутриклеточного цАМФ, который меняет частоту биения жгутика и запускает механизм, обеспечивающий удаление эвглены от источника голубого света. Необходимо отметить, что если при реализации фотофобного ответа *E. gracilis* функцию рецептора выполняет внеклеточный домен АЦ, то в случае фототаксиса функцию детектора светового сигнала могут выполнять и рецепторы серпантинного типа, функционально сопряженные с АЦ (Barsanti et al., 2000).

Аденилатциклазы дрожжевых и родственных им грибов

Аденилатциклазы грибов, как правило, представляют собой значительные по размерам цитозольные белки, которые не имеют ТМД и удерживаются вблизи мембраны вследствие образования межмолекулярных комплек-

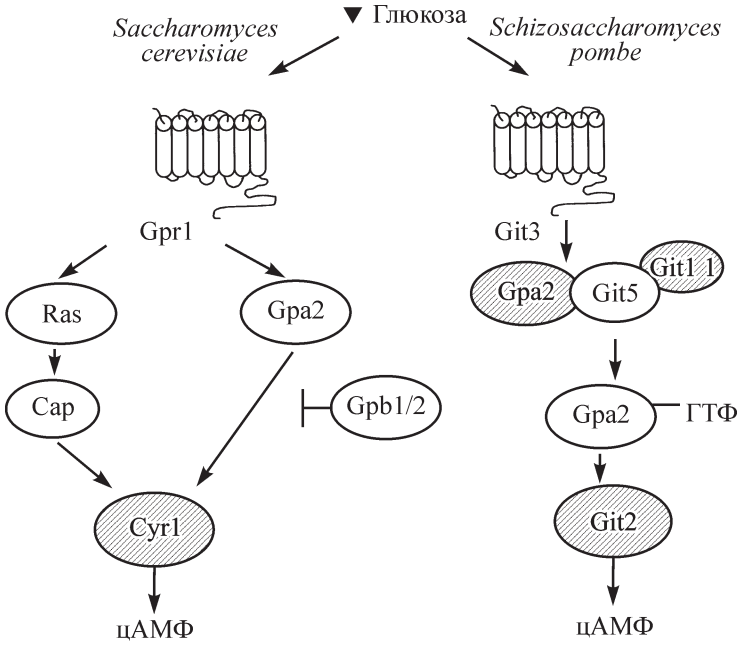

Рис. 2. Регуляторные эффекты глюкозы на активность АЦ у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, осуществляемые через сопряженные с G-белками рецепторы.

Gpr1 и Git3 — глюкозные рецепторы *S. cerevisiae* и *S. pombe* соответственно; RAS — малый RAS-белок 1-го или 2-го типа; Gpa2 — α-субъединица гетеротримерного G-белка; Git5 и Git11 — β- и γ-субъединицы G-белка; Gpb1/2-Gpg1 — димерный комплекс, включающий в себя Kelch-белок Gpb1/2 и мимикрирующий Gβγ-димер; Cap — 60 кДа белок, ассоциированный с АЦ; Cyr1 и Git2 — АЦ *S. cerevisiae* и *S. pombe* соответственно.

сов (Baker, Kelly, 2004a). Эти комплексы стабилизированы внутри- и межмолекулярными взаимодействиями между регулярными спиралями, которые формируются многочисленными повторяющимися участками, обогащенными остатками лейцина (LRR) и в молекулах АЦ дрожжевых грибов Cyr1 *S. cerevisiae* и Git2 *S. pombe* имеющими общую протяженность 565 и 625 АКО соответственно. Функциональными доменами АЦ дрожжей являются С-концевой циклазный домен, Ras-связывающий домен, который расположен ближе к N-концу молекулы, и домен, близкий по своей структуре к Ser/Thr-протеинфосфатазе 2С.

АЦ дрожжевого гриба *S. cerevisiae* кодируется геном *cyr1* и включает в себя 2026 АКО (Kataoka et al., 1985). Ее стимуляция может быть вызвана либо повышением внеклеточного уровня глюкозы, либо недостатком азота и закислением внутриклеточного содержимого дрожжевой клетки, причем если в первом случае активность фермента в основном регулируется через гетеротримерный Gpa2-βγ-белок, то во втором — через Ras1- и Ras2-белки, представляющие собой мономерные G-белки Ras-семейства (Kubler et al., 1997; Lorenz, Heitman, 1997; Dumortier et al., 2000; Hatanaka, Shimoda, 2001; Kido et al., 2002; Colombo et al., 2004) (рис. 2). Показано, что с Ras-белком взаимодействует АКП 676—771 Cyr1, которая предшествует LRR-участкам, хотя не исключено и прямое взаимодействие этих участков с Ras-белком (Suzuki et al., 1990; Shima et al., 1997). Наряду с этим Ras-белок взаимодействует с 60 кДа циклазаассоциированным белком Cap/Srv2p, который в свою очередь через посредство своего N-концевого участка 1—36 по спираль-спиральному механизму взаимодействует с С-концевым участком Cyr1 (Nishida et al., 1998; Shima et al., 2000). В пользу такого механизма свидетельствует тот факт, что мутации, которые заключаются в замене гидрофобных АКО Leu^{20}, Leu^{27} и Va^{130} в молекуле Cap-белка и Leu^{1916} и Leu^{1923} в молекуле Cyr1, расположенных в спиралях с гептадной периодичностью в позициях *a* и *d* и определяющих гидрофобные взаимодействия между такими спиралями, на другие аминокислоты приводят к нарушению ассоциации между Cap и Cyr1 (Nishida et al., 1998). Критичными для взаимодействия с Cyr1 являются и замены в N-концевом сегменте Cap-белка полярных АКО Asn^{12}, Arg^{26} и Glu^{28}, стабилизирующих спираль-спиральную структуру с помощью электростатических взаимодействий и водородных связей (Shima et al., 2000). В свою очередь, для того чтобы образовать функциональный комплекс с Cap и Cyr1, молекула Ras-белка должна быть модифицирована с С-конца фарнезильной группой, которая обеспечивает эффективное взаимодействие Ras-белка с гидрофильной стороной N-концевой спирали Cap-белка (Shima et al., 1997). Таким образом, варьируя конформацию двойной суперспирали, образованную N-концевой спиралью Cap и спиралью 1916—1940 Cyr1, Ras-белок регулирует функциональную активность циклазного домена 1611—1823, расположенного вблизи суперспирали.

Еще одним активатором Cyr1 *S. cerevisiae* является белок Sgt1, который участвует в регуляции функционирования кинетохора в процессе клеточного деления и реакций модификации клеточных белков убиквитином (Kitagawa et al., 1999). В С-концевй области Stg1 локализован высококонсервативный АЦ-связывающий домен, который, как полагают, непосредственно взаимодействует с LRR-участками молекулы Cyr1 (Dubacq et al., 2002). Необходимо отметить, что белок Git7 *S. pombe*, гомолог Stg1 *S. cerevisiae*, также требуется для активации АЦ *S. pombe* Git2, причем в их взаимодействии участвуют С-концевой домен Git7 и локализованные в молекуле Git2 LRR-участки, которые гомологичны соответственно

С-концевому домену Sgt1 и LRR-участкам Cyr1 *S. cerevisiae* (Schadick et al., 2002).

У дрожжей *S. pombe* выявлен ген *git2*, кодирующий молекулу АЦ протяженностью 1692 АКО (Young et al., 1989), функциональная активность которой регулируется α-субъединицей Gpa2 гетеротримерного Gpa2—Git5—Git11-белка, по не зависимому от Ras-белка механизму (Stiefel et al., 2004; Hoffman, 2005a, 2005b; Ivey, Hoffman, 2005) (рис. 2). В отличие от АЦ Cyr1 *S. cerevisiae*, для которой до сих пор не установлены участки АКП, вовлеченные во взаимодействие с гетеротримерным G-белком, да и сама возможность прямого взаимодействия с Gpa2—βγ-белком строго не доказана, в молекуле Git2 *S. pombe* выявлены участки, определяющие взаимодействие фермента с Gpa2-субъединицей, которые в основном локализованы в N-концевой части молекулы АЦ. Ключевую роль здесь играет короткий сегмент 177—182, расположенный в С-концевой половине высококонсервативного участка 167—184 (Ivey, Hoffman, 2005). Как точечная (Pro^{180}), так и парные (Pro^{180}/Pro^{182} и Leu^{177}/Thr^{178}) замены аминокислот в этом сегменте на аланины приводят к резкому снижению способности мутантной АКП 31—311 Git2 связываться с перманентно активированной Gpa2-субъединицей. В связывании с Gpa2 также принимает участие АКП 292—354 Git2, гомологичная Ras-связывающему домену 676—756 АЦ Cyr1 *S. cerevisiae* и доменам Raf-1 киназы и фосфатидилинозитол-3-киназы-γ млекопитающих, с которыми связываются малые G-белки Ras/Rap-семейства (Ogihara et al., 2004). Однако Ras-связывающий домен Git2 *S. pombe* заметно короче (63 АКО) соответствующих доменов других белков (коло 100 АКО) и лишен С-концевого участка, который в случае Cyr1 *S. cerevisiae* формирует α-спираль, а в случае киназ млекопитающих — β-складчатые структуры. Молекула Git2 эффективно взаимодействует с Gpa2-субъединицей в ГТФ-связанной форме, что типично для мембранно-связанных форм АЦ млекопитающих. Экспрессия гена, кодирующего участок 242—390 АЦ Git2, который включает в себя Ras-связывающий домен, приводит к конкурентному ингибированию функционального сопряжения Gpa2 с молекулой Git2, что в свою очередь приводит к снижению уровня цАМФ и дифференцированию дрожжевых клеток по полу, подобно тому как это происходит в условиях дефицита пищевых ресурсов. Обнаружение по крайней мере двух несовпадающих Gpa2-связывающих участков в N-концевой области Git2 связано с тем, что для эффективного взаимодействия между АЦ Git2 и активированной Gpa2-субъединицей необходимо несколько центров связывания на молекуле фермента. Об этом свидетельствует и тот факт, что мутации в сегменте 177—182 полноразмерной молекулы фермента, которые полностью ингибируют связывание Gpa2 с участком 31—311 Git2, лишь частично снижают стимулирующий эффект глюкозы на активность Git2 (Ivey, Hoffman, 2005). Следует обратить внимание также на то, что оба Gpa2-связывающих участка Git2 расположены на значительном расстоянии от каталитического домена 1331—1469 фермента, что сильно отличает АЦ *S. pombe* от мембранно-связанных форм АЦ млекопитающих, где эти сайты сближены и даже взаимно перекрываются. В то же время известно, что сайты, которые расположены на значительном расстоянии в первичной структуре белка, могут быть сближены в процессе скручивания белковой молекулы.

Если в случае мембранно-связанных АЦ высших эукариот роль Gα-субъединицы и(или) и Gβγ-димера заключается в обеспечении тесной ассоциации (стимуляция) или, наоборот, разъединения (ингибирование) двух каталитических доменов АЦ, то для АЦ дрожжевых грибов, располагающих только одним каталитическим доменом, такая модель представляется маловероятной, даже если принять во внимание возможность димеризации и(или) олигомеризации молекул фермента. Предполагается, что N-концевая часть АЦ дрожжей ассоциирована с циклазным доменом фермента и, таким образом, ингибирует его активность. Это предположение основано на том, что лишенная N-концевой части АЦ *S. pombe* постоянно находится в активированном состоянии, а ее активность не чувствительна к гуаниновым нуклеотидам, что свидетельствует об отсутствии взаимодействия мутантной АЦ с G-белками. Следовательно, связывание Gpa2-субъединицы с N-концевыми доменами АЦ Git2 *S. pombe*, а также Ras-белков и, возможно, Gpa2 или белков, содержащих Kelch-повторы, с N-концевыми доменами АЦ Cyr1 *S. cerevisiae* высвобождает циклазный домен АЦ и тем самым стимулирует его каталитическую активность.

АЦ дрожжей *C. albicans*, кодируемая геном *CaCDC35*, представляет собой периферический белок длиной 1690 АКО, лишенный ТМД, который обладает относительно высокой гомологией первичной структуры по отношению к АЦ дрожжевых грибов (при сравнении CaCDC35 и Cyr1 *S. cerevisiae* идентичность АКП составляет 32 %) и несколько более низкой гомологией по отношению к АЦ недрожжевых грибов *M. grisea* и *U. maydis* (21—26 % идентичности) (Mallet et al., 2000; Rocha et al., 2001). Делеция гена *CaCDC35* приводит к полному блокированию выработки эндогенного цАМФ, что указывает на отсутствие других типов АЦ в клетках *C. albicans*. АЦ CaCDC35, так же как и Cyr1 и Git2, содержит С-концевой циклазный домен 1311—1484, предшествующий ему домен 1004—1281, гомологичный протеинфосфатазе 2Cα человека (31 % идентичности), протяженный домен 458—923, состоящий из LRR-участков, и Ras-связывающий домен 304—400, который, как полагают, наряду с LRR-участками вовлечен во взаимодействие с Ras1-белком. В АЦ *C. albicans* отсутствует N-концевой домен, который в АЦ *S. cerevisiae* и *S. pombe* участвует во взаимодействии с Gpa2-субъединицей гетеротримерного G-белка. Несмотря на отсутствие этого домена, молекула CaCDC35 способна взаимодействовать с Gpa2-субъединицей, которая функционально сопряжена с рецептором CaGpr1, гомологом глюкозного рецептора Gpr1 *S. cerevisiae*, и осуществляет передачу инициируемого лигандом (предположительно глюкозой) сигнала от рецептора к АЦ, что вызывает активацию цАМФ-зависимых сигнальных путей (Miwa et al., 2004; Maidan et al., 2005). В то же время имеются многочисленные свидетельства в пользу того, что Ras1-белок в клетках *C. albicans* опосредует регуляторное влияние глюкозы на цАМФ-сигнальные пути в большей степени, чем Gpa2-субъединица (Feng et al., 1999; Leberer et al., 2001).

Сигнальные каскады, запускаемые вследствие активации АЦ, играют важную роль в контроле таких клеточных процессов в клетках дрожжей *S. cerevisiae*, как метаболизм, чувствительность к пищевым молекулам, рост, дифференцирование, устойчивость к стрессовым воздействиям и закисление внутриклеточной среды. У *S. pombe* и *C. albicans* цАМФ-сигнальные пути менее существен-

ны в сравнении с таковыми у *S. cerevisiae*. В то же время делеция гена, кодирующего АЦ *S. pombe*, резко снижает способность дрожжевых клеток к образованию колоний, а делеция гена АЦ *C. albicans* снижает скорость роста мутантных линий гриба и делает их неспособными к переходу от стадии почкования к стадии образования гифов (Hatanaka, Shimoda, 2001; Rocha et al., 2001). Принципиальное различие между функциями цАМФ-сигнальных путей у *S. cerevisiae* и таковыми у других грибов — как дрожжевых *S. pombe* и *C. albicans*, так и недрожжевых *M. grisea*, *U. maydis* и *N. crassa* — связано со следующим. Если у *S. cerevisiae* эти пути изначально вовлечены в реализацию регуляторного влияния пищевых сигналов на метаболические и ростовые процессы, то у других грибов они в основном функционируют в условиях стрессовых ситуаций и опосредуют запуск морфогенетических процессов, которые обеспечивают выбор оптимальной стратегии выживания в ответ на неблагоприятные внешние факторы (Rocha et al., 2001). В случае *C. albicans*, например, это выражается в переходе к стадии образования гифов.

Первые данные о присутствии АЦ у грибов *N. crassa*, относящихся к аскомицетам, относятся еще к началу 1970-х годов, когда было установлено, что некоторые пептидные гормоны млекопитающих способны регулировать активность ассоциированной с мембраной формы фермента (Flawia, Torres, 1972, 1973). После клонирования гена *cr-1*, кодирующего мембранно-связанную форму АЦ гриба, было установлено, что по своей структурно-функциональной организации фермент *N. crassa* обладает сходством с АЦ дрожжевых грибов (Kore-eda et al., 1991). Мутации в гене *cr-1* приводят к блокированию синтеза внутриклеточного цАМФ и как следствие вызывают многочисленные дефекты роста колоний *N. crassa*, укорочение гифов и преждевременное образование конидий, аномально повышают устойчивость мутантных линий гриба к тепловому стрессу (Cruz et al., 1988; Ivey et al., 2002). Регуляция функциональной активности АЦ Cr1 *N. crassa* осуществляется через посредство двух гетеротримерных G-белков, один из которых содержит Gα-субъединицу GNA-1 и является позитивным регулятором активности фермента, в то время как другой, содержащий Gα-субъединицу GNA-3, обеспечивает оптимальный уровень активной формы фермента в клетках гриба (Ivey et al., 1999; Kays et al., 2000). У мутантных линий гриба с мутациями в генах, кодирующих GNA-1 и GNA-3, выявляются многие нарушения и отклонения, которые характерны также и для *cr-1*-мутантов (Yang, Borkovich, 1999), что доказывает участие этих Gα-субъединиц в цАМФ-зависимых сигнальных путях. Однако гетеротримерные G-белки вовлечены и в цАМФ-независимые каскады, которые не включают в себя АЦ Cr1. Так, например, делеция гена *gna-1* делает клетки *N. crassa* неспособными к ответу на внеклеточный цАМФ, который, как предполагают, через рецептор серпантинного типа, родственный цАМФ-рецепторам *D. discoideum*, регулирует активность АЦ Cr1 и, таким образом, контролирует уровень внутриклеточного цАМФ, определяющего развитие и морфологию гриба (Ivey et al., 1999, 2002). В то же время в мутантных линиях *N. crassa*, имеющих мутацию в гене *cr-1* или делецию гена *gna-3*, добавление цАМФ в инкубационную среду в значительной степени восстанавливает морфологические признаки клеток дикого типа (Kays et al., 2000). На основании этих фактов можно предположить, что в клетках гриба *N. crassa* имеются по крайней мере два сопряженных с G-белками сигнальных пути, регулируемых внеклеточным цАМФ, точкой бифуркации в которых является Gα-субъединица GNA-1. Передача сигнала через первый из этих путей, включающий в себя АЦ, приводит к активации ПКА, которая стимулирует рост дыхательных гифов и кончиков базальных гифов и наряду с этим тормозит образование конидий и блокирует опосредуемую глюкозой регуляцию генной экспрессии (Kays et al., 2000; Banno et al., 2005). Через посредство второго, цАМФ-независимого, пути, который, как полагают, представляет собой каскад митоген-активируемых киназ (МАПК), осуществляется позитивная регуляция образования конидий и спор (Ivey et al., 2002). В этой связи следует отметить, что у *N. crassa* выявлен ген *nrc-1*, кодирующий киназу киназы МАПК, один из ключевых компонентов каскада МАПК (Kothe, Free, 1998). Предполагается, что оба сигнальных пути — цАМФ-зависимый и цАМФ-независимый — интерферируют между собой, доказательством чего служит согласованность регуляторных влияний, осуществляемых через эти пути, на процессы образования конидий (Ivey et al., 2002).

У грибов *C. neoformans*, вызывающих у человека грибковые заболевания, и у фитопатогенных грибов *U. maydis* и *M. grisea*, поражающих кукурузу, рис и другие растения, также выявлены АЦ, которые являются периферическими белками, обладают значительной гомологией первичной структуры (40—45 % идентичности) и сходны по своей структурно-функциональной организации с АЦ дрожжей и *N. crassa* (Choi, Dean, 1997; Alspaugh et al., 2002; Lee et al., 2003). У *C. neoformans* выявлены два молекулярных механизма регуляции активности АЦ Cac1, один из которых осуществляется через сопряженную с рецептором серпантинного типа Gpa1-субъединицу G-белка, в то время как другой реализуется через посредство ассоциированного с АЦ Aca1-белка, ответственного за вирулентность и дифференцирование гриба (Bahn et al., 2004). Функцию рецептора могут выполнять как глюкозный рецептор, так и недавно обнаруженный аминокислотный рецептор Gpr4, связывание которого с метионином приводит к активации цАМФ-зависимого сигнального пути через посредство Gpa1-субъединицы (Xue et al., 2006).

Показано, что цАМФ-сигнальные пути определяют вирулентность патогенных грибов, а мутации, выключающие в себя компоненты АЦ-системы грибов, приводят к потере ими способности вызывать грибковые заболевания животных и растений и наряду с этим нарушают протекание полового процесса. К сходным последствиям ведут и нарушения цАМФ-сигнальных путей у *C. albicans*, вызывающего кандидамикозы животных. Таким образом, направленное воздействие на компоненты АЦ-системы является одним из перспективных подходов, который может быть применен для снижения или полного блокирования вирулентности патогенных грибов и разработки новых противогрибковых препаратов и генно-инженерных технологий с целью создания устойчивых к фитопатогенным грибам сельскохозяйственных культур.

Аденилатциклазы малярийного плазмодия

Еще на рубеже 1980—1990-х годов было убедительно доказано, что уровень внутриклеточного цАМФ и функциональная активность цАМФ-зависимых фермен-

тов — ПКА и цАМФ-фосфодиэстеразы — непосредственно влияют на протекание гаметоцитогенеза у малярийного плазмодия *P. falciparum* (Kaushal et al., 1980; Inselburg, 1983; Trager, Gill, 1989; Read, Mikkelsen, 1991). Гаметоцитогенез представляет собой процесс дифференцирования асексуальной формы паразита, в которой он существует в кровяном русле зараженного малярией человека, в мужские или женские гаметоциты, являющиеся трансмиссионной формой *P. falciparum*, в которой плазмодий способен передаваться от инфицированного человека насекомому. В дальнейшем у плазмодия были обнаружены и охарактеризованы два типа АЦ — PfACα и PfACβ, которые сильно различаются по своей структурно-функциональной организации (Muhia et al., 2003; Baker, 2004; Baker, Kelly, 2004b). Показано, что мембранно-связанная форма АЦ PfACα осуществляет синтез цАМФ и, таким образом, является одним из важнейших регуляторов жизненного цикла плазмодия (Billker et al., 2004). Молекула PfACα представляет собой гибрид С-концевого цитоплазматического домена с циклазной активностью и родственного ионным каналам N-концевого домена, который содержит шесть ТМД и по целому ряду признаков сходен с потенциалзависимым калиевым каналом KvAP бактерии *Aeropyrum pernix*, также содержащим шесть ТМД (S1—S6) (Jiang et al., 2003). В S1—S4-участках KvAP локализованы заряженные АКО, представляющие собой детекторы мембранного потенциала, изменение которого вызывает открытие или закрытие поры ионного канала. Показано, что функционально важные для ионной проводимости заряженные остатки высококонсервативны и в ТМД PfACα (Jiang et al., 2003; Weber et al., 2004). В частности, в ТМД4 АЦ плазмодия локализован сегмент KSLRIIKIYR$^{182—191}$, гомолог которого в S4-участке KvAP *A. pernix* непосредственно участвует в транспорте ионов калия. Наряду с этим в поре калиевого канала *A. pernix* имеется локализованная между участками S5 и S6 короткая последовательность TVGYGD, определяющая селективность ионного канала. В структуре PfACα выявлен гомологичный ему сегмент LLGFGE$^{499—504}$, который хотя и отличается по своей локализации (расположен вслед за ТМД6, а не предшествует ему), но, так же как и в калиевом канале KvAP *A. prenix*, пространственно сближен с порой канала и, следовательно, может определять селективность транспорта катионов калия через PfACα. При этом сегмент 499—504 сближен с циклазным доменом фермента, что может обеспечивать функциональную связь между ионной проводимостью PfACα и ее каталитической активностью.

Второй тип АЦ плазмодия PfACβ представляет собой цитозольную, растворимую, форму фермента, которая в отличие от PfACα имеет два псевдосимметричных циклазных домена (С1 и С2), локализованных в N-концевой части молекулы (Muhia et al., 2003). По своей первичной структуре PfACβ гомологична растворимым формам АЦ млекопитающих, а также цитозольным АЦ некоторых беспозвоночных животных (например, москита *Anopheles gambiae*) и бактерий, выполняющих функцию сенсора бикарбоната. Филогенетический анализ обнаруживает гомологию и по отношению к ГЦ типа А амебы *D. discoideum*. В то же время, несмотря на присутствие в молекуле двух циклазных доменов, PfACβ сильно отличается от сопряженных с G-белками мембранно-связанных форм АЦ. В С1-домене PfACβ имеется вставка длиной 120 АКО, которая, хотя и в укороченном варианте, присутствует и в соответствующих позициях циклазных доменов PfACα и обеих форм ГЦ *P. falciparum*. Поскольку в аналогичной позиции в циклазных доменах АЦ трипаносом расположен δ-субдомен, который, как отмечалось выше, выполняет регуляторные функции (Taylor et al., 1999; Bieger, Essen, 2001), можно предположить сходные функции и для вставки в С1-домене PfACβ плазмодия.

Субстратную специфичность PfACα и PfACβ по отношению к адениновым нуклеотидам определяют остатки Lys^{576} и Lys^{164}, локализованные в нуклеотидсвязывающем сайте циклазных доменов (в ГЦ в этой позиции локализован остаток Glu). Однако в АЦ обоих типов отсутствуют остатки Asp, также необходимые для селективного взаимодействия с АТФ и высококонсервативные в АЦ большинства эукариот, сопряженных с G-белками. Их место в PfACα и PfACβ занимают гидроксилсодержащие АКО — Ser^{684} и Thr^{722} соответственно. Сходная ситуация наблюдается и в случае АЦ CyaB1 цианобактерии *Anabaena cylindrica* и АЦ бактерии *M. tuberculosis*, в которых Asp заменен на Thr, который не только существен для ферментативной активности, но и включен в активацию бактериальных АЦ бикарбонат-анионом (Kanacher et al., 2002; Cann et al., 2003). Обнаружение сходства с бикарбонат-чувствительными АЦ бактерий хорошо согласуется с тем, что изменение pH, вызванное бикарбонатом, способно влиять на подвижность плазмодия, в основе чего может лежать активация АЦ, в частности PfACβ (Baker, Kelly, 2004).

Недавно у *P. falciparum* была обнаружена активность АЦ, которая не ассоциирована с PfACα и PfACβ и регулируется через сопряженные с G-белками рецепторы (Harrison et al., 2003). Регуляция АЦ осуществляется через β2-адренергические рецепторы и Gα-субъединицу гетеротримерного G_s-белка красных кровяных клеток хозяина. Плазмодий не только инициирует и контролирует экспрессию гетеротримерных G-белков в эритроцитах инфицированного человека, но и включает их в свои сигнальные каскады, через которые осуществляется регуляция процессов сексуального развития паразита (Dyer, Day, 2000). В свою очередь развитие паразита также влияет на функциональную активность сопряженных с G-белками сигнальных каскадов клетки хозяина. При этом в геноме *P. falciparum* генов, кодирующих гомологи гетеротримерных G-белков млекопитающих, не выявлено. Таким образом, малярийный плазмодий *P. falciparum* представляет собой пока единственный пример использования одним организмом компонентов сигнальных систем другого организма с целью реализации собственной программы развития.

Аденилатциклазы инфузорий и энтероамебы

У инфузорий *Paramecium* и *Tetrahymena* выявлены формы АЦ, функциональной особенностью которых является активность, характерная для калиевых каналов (Schultz et al., 1992; Weber et al., 2004). Эти АЦ, так же как и PfACα плазмодия, имеют N-концевой домен, представляющий собой ионный канал, и следующий за ним каталитический домен с циклазной активностью. В ТМД4 N-концевого домена локализован сегмент, выполняющий функцию сенсора мембранного потенциала, а в С-концевой части этого домена находится АКП, определяющая селективность ассоциированного с АЦ

калиевого канала. Показано, что образование цАМФ стимулируется повышением калиевой проводимости, что указывает на тесную взаимосвязь между функциональными доменами в АЦ парамеции (Weber et al., 2004). Показано, что у *Paramecium* внутриклеточный уровень цАМФ определяет протекание ряда клеточных процессов и в первую очередь влияет на направленное движение инфузорий (Schultz, Klumpp, 1993).

В геноме *Tetrahymena* выявлено значительное число и других форм АЦ, которые являются как цитозольными, так и мембранно-связанными, но их структурно-функциональная организация в настоящее время практически не изучена. Еще в середине 1970-х годов появились первые данные, свидетельствующие в пользу регуляции активности фермента гормонами высших позвоночных животных (Csaba, Nagy, 1976; Csaba et al., 1976). В дальнейшем было показано, что широкий спектр пептидных гормонов, таких как инсулин, ЭФР, АКТГ, ФСГ, ТСГ, эндотелин-1, натрийуретический фактор, окситоцин, вазопрессин, β-эндорфин, а также биогенные амины, пурины и стероидные гормоны являются специфическими индукторами или, наоборот, блокаторами хемотаксиса, регулируют фагоцитоз и другие жизненно важные процессы *Tetrahymena*, осуществляя свое регуляторное влияние через различные сигнальные системы, в число которых входят и цАМФ-зависимые каскады (Christensen et al., 2003; Kohidai et al., 2003; Rosner et al., 2003; Rodriguez et al., 2004; Csaba et al., 2005). Нами получены убедительные доказательства, свидетельствующие в пользу чувствительности АЦ инфузорий *T. pyriformis* и *Dileptus anser* как к гормональным (биогенным аминам и пептидным гормонам), так и к негормональным агентам (фториду натрия и гуаниновым нуклеотидам) (Деркач и др., 2002, 2003; Шпаков и др., 2003б, 2004а, 2004б, 2005).

У возбудителя амебиаза энтероамебы *Entamoeba invandens* биохимическими методами выявлена активность АЦ, которая функционально сопряжена с гетеротримерными G-белками, субстратами холерного и коклюшного токсинов, и активируется негормональными агентами (форсколином) и гормоном адреналином (Soid-Raggi et al., 1998; Paveto et al., 1999; Coppi et al., 2002; Frederick, Eichinger, 2004). Показано, что адреналин через β_1-подобный адренергический рецептор стимулирует ГТФ-связывающую активность гетеротримерных G-белков и каталитическую активность АЦ, причем свое регуляторное влияние гормон оказывает в концентрациях, являющихся эффективными в тканях высших позвоночных животных. Поскольку адреналин повышает уровень цАМФ и стимулирует ГТФ-связывание при его действии не только на целые клетки амебы, но и на фракцию плазматических мембран, можно заключить, что все основные компоненты чувствительной к катехоламинам АЦ-сигнальной системы *E. invandens* локализованы в мембране и сходны по этому показателю с АЦ-системами высших эукариот. Активация цАМФ-зависимых сигнальных каскадов адреналином необходима для перехода амебы в инфекционную форму. Следует подчеркнуть, что у амебы *E. histolytica* обнаружена регуляция процесса дифференцирования амеб фибронектином, который, связываясь с поверхностными рецепторами, вызывает повышение внутриклеточного уровня цАМФ и влияет на функциональную активность ряда эффекторных систем клетки (Santiago et al., 1994; Meza, 2000).

Интрига состоит в том, что в частично расшифрованных геномах амеб *E. invandens* и *E. histolytica* до сих пор не выявлено генов, которые кодировали бы «классические» типы α-субъединиц G-белков (Frederick, Eichinger, 2004). В то же время отчетливо показано, что обработка коклюшным и холерным токсинами приводит к повышению базального уровня АЦ и позволяет выявить по крайней мере три изоформы G-белков, являющихся мишенями АДФ-рибозилирования бактериальными токсинами (Soid-Raggi et al., 1998; Paveto et al., 1999). В пользу участия гетеротримерных G-белков в процессе стимуляции АЦ адреналином свидетельствует и то, что эффекты гормона наблюдаются во фракции плазматических мембран, с которыми эти белки ассоциированы, в то время как малые G-белки, гены которых широко представлены в геноме амеб, не являются мембранно-связанными белками. Имеются два возможных объяснения выявленного феномена: либо полная расшифровка позволит обнаружить гетеротримерные G-белки и сопряженные с ними компоненты сигнальных систем, либо по аналогии с *P. falciparum* энтероамеба, являющаяся паразитирующим организмом, способна на определенных стадиях жизненного цикла использовать сигнальные блоки, заимствованные из клеток хозяина.

Заключение

Представленные в обзоре данные свидетельствуют о том, что основные молекулярные механизмы, лежащие в основе функционирования АЦ-системы высших эукариот, сформировались еще на уровне одноклеточных организмов. При этом АЦ-системы одноклеточных организмов существенно разнообразнее, чем у многоклеточных животных, что может быть связано как с особенностями жизненного цикла низших эукариот (в частности, со способностью некоторых из них вести паразитический образ жизни), так и с апробацией на начальных этапах эволюции различных моделей регуляции цАМФ-зависимых сигнальных каскадов. У одноклеточных наряду с гормонами и гормоноподобными агентами (ростовыми факторами и феромонами), являющимися типичными регуляторами АЦ-систем высших эукариот, активирующий АЦ сигнал может генерироваться пищевыми молекулами (сахарами и аминокислотами), вторичными посредниками (цАМФ), а также неорганическими ионами и квантами света. Вследствие этого у них функционируют формы АЦ, которые не выявлены у высших эукариот. К таким реликтовым формам фермента могут быть отнесены АЦ плазмодия и инфузорий, представляющие собой гибриды собственно фермента и потенциалзависимого ионного канала, циклазная активность которых определяется концентрацией катионов калия, а также АЦ-G и АЦ-B амебы *D. discoideum*, первая из которых является осмотическим сенсором, а другая совмещает в себе функции циклазы и гистидинкиназы.

Разнообразие цАМФ-зависимых путей связано также с двойственной ролью, которую играет цАМФ в клетках некоторых представителей низших эукариот, например амебы *D. discoideum* и гриба *N. crassa*. У этих организмов цАМФ не только выполняет функцию вторичного посредника, локализованного в цитоплазматическом пространстве и регулирующего функциональную активность цАМФ-зависимых эффекторных систем, но и является внеклеточным регулятором, который ответствен за межклеточную коммуникацию, хемотаксис (*D. discoideum*), а также за морфологические изменения и про-

цесс дифференцирования (*N. crassa* и *D. discoideum*). Необходимость адекватно воспринимать сигнал, вызываемый внеклеточным цАМФ, привела к созданию высокоспецифичной сигнальной системы, которая состоит из детектора цАМФ — рецептора серпантинного типа (у *D. discoideum* выявлены четыре типа таких рецепторов), передающего звена, представленного различными молекулярными блоками, в том числе гетеротримерными G-белками, и усилителей сигнала, среди которых ключевую роль играет фермент АЦ (АЦ-А у *D. discoideum* и АЦ Cr1 у *N. crassa*), генерирующий образование цАМФ, который либо секретируется во внеклеточное пространство и вновь запускает сигнальный каскад, либо активирует ПКА и регулирует внутриклеточные эффекторные системы. Таким образом, реализуется уникальная ситуация, при которой содержание циклического нуклеотида во внеклеточном пространстве непосредственно влияет на уровень цАМФ внутри клетки и на активность цАМФ-компетентных эффекторных систем, которые в свою очередь определяют уровень внеклеточного цАМФ. Такая двойственность функций цАМФ отразилась на архитектуре и структурно-функциональной организации как самой молекулы АЦ, так и всего ансамбля сопряженных с ней сигнальных белков. Необходимость направленного движения клетки по градиенту цАМФ обусловила поляризацию клетки на уровне распределения компонентов сигнальных и регулируемых ими эффекторных систем, как это имеет место в случае амебы *D. discoideum*.

В последние годы получены доказательства в пользу того, что у трипаносом и лейшмании функционирует многочисленное семейство АЦ, которые одновременно могут выполнять функцию как рецептора, так и эффекторного звена сигнальной системы, что в определенной степени напоминает рецепторы тирозинкиназного типа и ионные каналы высших позвоночных. АЦ *Trypanosoma* и *Leishmania* являются уникальным явлением и до сих пор не были выявлены у других представителей эукариот. Предполагается, что эти АЦ возникли в результате того, что трипаносомы и лейшмании на протяжении всего жизненного цикла паразитируют в организме высших эукариот. В то же время гипотеза о том, что лишь один паразитизм мог привести к тотальной перестройке генома *Trypanosoma* и *Leishmania* и стал определяющим фактором в создании принципиально новых сигнальных молекул, выглядит малоубедительной, тем более что фермент, сходный по своей структурно-функциональной организации, обнаружен у автотрофного жгутиконосца *E. gracilis*. Не исключено, что на начальных этапах эволюции отрабатывались принципиально различные модели цАМФ-зависимых сигнальных систем, одна из которых и могла сохраниться у жгутиконосцев. Эта модель, сочетающая в одной молекуле рецептор и эффектор, не позволяет осуществлять тонкую регуляцию сигнальных путей и, как можно полагать, не приспособлена для динамичного ответа на резкие изменения окружающей среды. В то же время ее можно успешно использовать для относительно примитивных организмов, которые либо ведут паразитический образ жизни, либо обладают способностью к фотосинтезу, что позволяет им существовать в относительно автономном режиме.

На уровне сигнальных систем одноклеточных, ведущих паразитический образ жизни (плазмодий *P. falciparum* и, возможно, энтероамеба *E. invandens*), возникает необычная ситуация, когда компоненты сигнальных систем позвоночных животных (рецепторы и гетеротримерные G-белки) используются в качестве полноценных блоков цАМФ-зависимых сигнальных каскадов, функционирующих в клетках одноклеточных, причем этот процесс не является случайным захватом сигнальных белков, а строго запрограммирован и необходим для жизнедеятельности низших эукариот. При этом в геноме паразитирующих одноклеточных наблюдается выключение или даже делеция генов, кодирующих сигнальные белки, которые заимствуются у высших эукариот. Вследствие этого паразит уже не может нормально функционировать и тем более размножаться вне клетки хозяина.

Подводя итоги рассмотрению АЦ одноклеточных, необходимо отметить еще одну их отличительную особенность от АЦ высших эукариот. На уровне низших эукариот нет того жесткого структурно-функционального разграничения между АЦ и родственными им ГЦ, которое произошло на более поздних этапах эволюции циклаз, на уровне позвоночных животных. Так, рецепторподобные АЦ жгутиконосцев по своей топологии и механизмам функционирования больше напоминают ГЦ позвоночных животных. В то же время некоторые типы мембранно-связанных форм ГЦ одноклеточных, наоборот, близки к мембранно-связанным формам АЦ позвоночных. Действительно, ГЦ-А *D. discoideum*, как и «классические» АЦ млекопитающих, 12 раз пронизывает плазматическую мембрану, имеет два циклазных домена, а ее активность регулируется хемоаттрактантами внеклеточным цАМФ и фолиевой кислотой через рецепторы, функционально сопряженные с гетеротримерными G-белками (Roelofs et al., 2001a, 2001b). Сходную с АЦ млекопитающих структурно-функциональную организацию имеют и мембранно-связанные формы ГЦ плазмодия *P. falciparum* и инфузорий *Paramecium* и *Tetrahymena*, которые различаются только наличием N-концевого АТФаза-подобного домена P-типа, содержащего дополнительные 10 ТМД (Linder et al., 1999; Carucci et al., 2000).

Список литературы

Деркач К. В., Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Ирлина И. С., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2003. Регуляция аденилатциклазной системы инфузории *Tetrahymena pyriformis* гормональными и негормональными агентами и ее зависимость от уровня базальной активности аденилатциклазы. Журн. эволюц. биохим. физиол. 39 (4) : 332—338.

Деркач К. В., Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Успенская З. И., Перцева М. Н. 2002. Гормоночувствительная аденилатциклазная система инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 44 (11) : 1129—1134.

Шпаков А. О., Деркач К. В., Гурьянов И. А., Успенская З. И., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Власов Г. П., Перцева М. Н. 2005. Ингибирующее влияние поликатионных пептидов на регуляцию аденилатциклазы гормонами у инфузорий *Dileptus anser*. Цитология. 478 (8) : 714—722.

Шпаков А. О., Деркач К. В., Перцева М. Н. 2003а. Гормональные системы низших эукариот. Цитология. 45 (3) : 223—234.

Шпаков А. О., Деркач К. В., Успенская З. И., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2003б. Регуляция биогенными аминами и пептидными гормонами активности аденилатциклазы и протеинкиназы А у инфузорий *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis*. Докл. РАН. 378 (2) : 275—277.

Шпаков А. О., Деркач К. В., Успенская З. И., Шпакова Е. А., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2004а. Регуляция пептидами инсулинового суперсемейства аденилат-

циклазной сигнальной системы в клеточных культурах инфузорий *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis*. Журн. эволюц. биохим. физиол. 40 (4) : 290—297.

Шпаков А. О., Деркач К. В., Успенская З. И., Шпакова Е. А., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2004б. Молекулярные механизмы регуляторного действия агонистов адренергических рецепторов на функциональную активность аденилатциклазной сигнальной системы инфузорий *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis*. Цитология. 46 (4) : 317—325.

Alexandre S., Paindavoine P., Hanocq-Quertier J., Paturiaux-Hanocq F., Tebabi P., Pays E. 1996. Families of adenylate cyclase genes in *Trypanosoma brucei*. Mol. Biochem. Parasitol. 77 : 173—182.

Alspaugh J. A., Pukkila-Worley R., Harashima T., Cavallo L. M., Funnell D., Cox G. M., Perfect J. R., Kronstad J. W., Heitman J. 2002. Adenylyl cyclase functions downstream of the Gα protein Gpa1 and controls mating and pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*. Eukaryot. Cell. 1 : 75—84.

Anjard C., Soderbom F., Loomis W. F. 2001. Requirements for the adenylyl cyclases in the development of *Dictyostelium*. Development. 128 : 3649—3654.

Bahn Y. S., Hicks J. K., Giles S. S., Cox G. M., Heitman J. 2004. Adenylyl cyclase-associated protein Aca1 regulates virulence and differentiation of *Cryptococcus neoformans* via the cyclic AMP-protein kinase A cascade. Eukaryot. Cell. 3 : 1476—1491.

Baker D. A. 2004. Adenylyl and guanylyl cyclases from the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. IUBMB Life. 56 : 535—540.

Baker D. A., Kelly J. M., 2004a. Structure, function, and evolution of microbial adenylyl and guanylyl cyclases. Mol. Microbiol. 52 : 1229—1242.

Baker D. A., Kelly J. M., 2004b. Purine nucleotide cyclases in the malaria parasite. Trends in Parasitol. 20 : 227—232.

Banno S., Ochiai N., Noguchi R., Kimura M., Yamaguchi I., Kanzaki S. I., Murayama T., Fujimura M. 2005. A catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase, PKAC-1, regulates asexual differentiation in *Neurospora crassa*. Genes Genet. Syst. 80 : 25—34.

Barsanti L., Passarelli V., Walne P. L., Gualtieri P. 2000. The photoreceptor protein of *Euglena gracilis*. FEBS Lett. 482 : 247—251.

Bieger B., Essen L. O. 2001. Structural analysis of adenylate cyclases form *Trypanosoma brucei* in their monomeric state. EMBO J. 20 : 433—445.

Billker O., Dechamps S., Tewari R., Wenig G., Franke-Fayard B., Brinkmann V. 2004. Calcium and a calcium-dependent protein kinase regulate gamete formation and mosquito transmission in a malaria parasite. Cell. 117 : 503—514.

Brzostowski J., Johnson C., Kimmel A. 2002. Gα-mediated inhibition of developmental signal response. Curr. Biol. 12 : 1199—1208.

Brzostowski J. A., Parent C. A., Kimmel A. R. 2004. A Gα-dependent pathway that antagonizes multiple chemoattractant responses that regulate directional cell movement. Genes Develop. 18 : 805—815.

Cann M. J., Hammer A., Zhou J., Kanacher T. 2003. A defined subset of adenylyl cyclases is regulated by bicarbonate ion. J. Biol. Chem. 278 : 35 033—35 038.

Carucci D. J., Witney A. A., Muhia D. K., Warhurst D. C., Schaap P., Meima M., Li J. L., Taylor M. C., Kelly J. M., Baker D. A. 2000. Guanylyl cyclase activity associated with putative bifunctional integral membrane proteins in *Plasmodium falciparum*. J. Biol. Chem. 275 : 22 147—22 156.

Chen M. Y., Long Y., Devreotes P. N. 1997. A novel cytosolic regulator, *pianissimo*, is required for chemoattractant receptor and G protein-mediated activation of the 12 transmembrane domain adenylyl cyclases in *Dictyostelium*. Genes Develop. 11 : 3218—3231.

Choi W., Dean R. A. 1997. The adenylyl cyclases gene MAC1 of *Magnaporthe grisea* controls appressorium formation and other aspects of growth and development. Plant Cell. 9 : 1973—1983.

Christensen S. T., Guerra C. F., Awan A., Wheatley D. N., Satir P. 2003. Insulin receptor-like proteins in *Tetrahymena thermophila* ciliary membranes. Curr. Biol. 13 : 50—52.

Colombo S., Ronchetti D., Thevelein J. M., Winderickx J., Martegani E. 2004. Activation state of the Ras2 protein and glucose-induced signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem. 279 : 46 715—46 722.

Comer F. I., Lippincott C. K., Masbad J. J., Parent C. A. 2005. The PI3K-mediated activation of CRAC independently regulates adenylyl cyclases activation and chemotaxis. Curr. Biol. 15 : 134—139.

Comer F. I., Parent C. A. 2006. Phosphoinositide 3-kinase activity controls the chemoattractant-mediated activation and adaptation of adenylyl cyclase. Mol. Biol. Cell. 17 : 357—366.

Coppi A., Merali S., Eichinger D. 2002. The enteric parasite *Entamoeba* uses an autocrine catecholamine system during differentiation into the infectious cyst stage. J. Biol. Chem. 277 : 8083—8090.

Cotter D. A., Dunbar A. J., Buconjic S. D., Wheldrake J. F. 1999. Ammonium phosphate in sori of *Dictyostelium discoideum* promotes spore dormancy through stimulation of the osmosensor ACG. Microbiology. 145 : 1891—1901.

Cruz A. K., Terenzi H. F., Jorge J. A. 1988. Cyclic AMP-dependent, sonstitutive thermotolerance in the adenylyl cyclase-deficient *cr-1* (crisp) mutant of *Neurospora crassa*. Curr. Genet. 13 : 451—454.

Csaba G., Kovacs P., Pallinger E. 2005. Hormonal interactions in *Tetrahymena*: effect of hormones on levels of epidermal growth factor (EGF). Cell Biol. Int. 29 : 301—305.

Csaba G., Nagy S. U. 1976. Effect of vertebrate hormones on the cyclic AMP level in *Tetrahymena*. Acta Biol. Med. Ger. 35 : 1399—1401.

Csaba G., Nagy S. U., Lantos T. 1976. Are biogenic amines acting on *Tetrahymena* through a cyclic AMP mechanism? Acta Biol. Med. Ger. 35 : 259—261.

Dornmann D., Kim J.-Y., Devreotes P. N., Weijer C. J. 2001. cAMP receptor affinity controls wave dynamics, geometry and morphogenesis in *Dictyostelium*. J. Cell Sci. 114 : 2513—2523.

Dubacq C., Guerois R., Courbeyrette R., Kitagawa K., Mann C. 2002. Sgt1p contributes to cyclic AMP pathway activity and physically interacts with the adenylyl cyclases Cyr1p/Cdc35 in budding yeast. Eukaryot. Cell. 1 : 568—582.

Dumortier F., Vanhalewyn M., Debast G., Colombo S., Ma P., Winderickx J., Van Dijck P., Thevelein J. M. 2000. A specific mutation in *Saccharomyces cerevisiae* adenylate cyclase, CyrK176M, eliminates glucose- and acidification-induced cAMP signalling and delays glucose-induced loss of stress resistance. Int. J. Food Microbiol. 10 : 103

Dyer M., Day K. 2000. Expression of *Plasmodium falciparum* trimeric G proteins and their involvement in switching to sexual development. Mol. Biochem. Parasitol. 110 : 437—448.

Feng Q., Summers E., Guo B., Fink G. R. 1999. Ras signaling is required for serum-induced hyphal differentiation in *Candida albicans*. J. Bacteriol. 181 : 6339—6346.

Firtel R. A. 1996. Interacting signaling pathways controlling multicellular development in *Dictyostelium*. Curr. Opin. Genet. Develop. 6 : 545—554.

Flawia M. M., Torres H. N. 1972. Activation of membrane-bound adenylyl cyclase by glucagon in *Neurospora crassa*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 69 : 2870—2873.

Flawia M. M., Torres H. N. 1973. Adenylyl cyclase activity in *Neurospora crassa*: modulation by glucagon and insulin. J. Biol. Chem. 248 : 4517—4520.

Fraidenraich D., Pena C., Isola E. L., Lammel E. M., Coso O., Anel A. D., Pongor S., Baralle F., Torres H. N., Flawia M. M. 1993. Stimulation of *Trypanosoma cruzi* adenylate cyclase by an alpha D-globin fragment from *Triatoma* hindgut: effect of differentiation of epimastigote to trypomastigote forms. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 90 : 10 140—10 144.

Frederick J., Eichinger D. 2004. Entamoeba invandens contains the components of a classical adrenergic signaling system. Mol. Biochem. Parasitol. 137 : 339—343.

Funamoto S., *Meili R.*, *Lee S.*, *Parry L.*, *Firtel R. A. 2002.* Spatial and temporal regulation of 3-phospoinositides by PI3-kinase and PTEN mediates chemotaxis. Cell. 109 : 611—623.

Harrison T., *Samuel B. U.*, *Akompong T.*, *Hamm H.*, *Mohandas N.*, *Lomasney J. W.*, *Haldar K. 2003.* Erythrocyte G protein-coupled receptor signaling in malarial infection. Science. 301 : 1734—1736.

Hatanaka M., *Shimoda C. 2001.* The cyclic AMP/PKA signal pathway is required for initiation of spore germination in *Schizosaccharomyces pombe*. Yeast. 18 : 207—217.

Hoffman C. S. 2005a. Except in every detail: comparing and contrasting G-protein signaling in *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. Eukaryot. Cell. 4 : 495—503.

Hoffman C. S. 2005b. Glucose sensing via the protein kinase A pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. Biochem. Soc. Trans. 33 : 257—260.

Insall R. H., *Borlies J.*, *Devreotes P. N. 1996.* The aimless RasGEF is required for processing of chemotactic signal through G-protein-coupled receptors in *Dictyostelium*. Curr. Biol. 6 : 719—729.

Inselburg J. 1983. Stage-specific inhibitory effect of cyclic AMP on asexual maturation and gametocyte formation pf *Plasmodium falciparum*. J. Parasitol. 69 : 592—597.

Iseki M., *Matsunaga S.*, *Murakami A.*, *Ohno K.*, *Shiga K.*, *Yoshida K.*, *Sigai M.*, *Takahashi T.*, *Hori T.*, *Watanabe M. 2002.* A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photo avoidance in *Euglena gracilis*. Nature. 415 : 1047—1051.

Ivey F. D., *Hoffman C. S. 2005.* Direct activation of fission yeast adenylyl cyclase by the Gpa2 Gα of the glucose signaling pathway. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 : 6108—6113.

Ivey F. D., *Kays A. M.*, *Borkovich K. A. 2002.* Shared and independent roles for a $G\alpha_i$ protein and adenylyl cyclase in regulating development and stress responses in *Neurospora crassa*. Eukaryot. Cell. 1 : 634—642.

Ivey F. D., *Yang Q.*, *Borkovich K. A. 1999.* Positive regulation of adenylyl cyclase activity by a $G\alpha_i$ homologue in *Neurospora crassa*. Fungal Genet. Biol. 26 : 48—61.

Jiang Y., *Lee A.*, *Chen J.*, *Ruta V.*, *Cadene M.*, *Chait B. T.*, *MacKinnon R. 2003.* X-ray structure of a voltage-dependent K^+ channel. Nature. 423 : 33—41.

Kanacher T., *Schultz A.*, *Linder J. U.*, *Schultz J. E. 2002.* A GAF-domain-regulated adenylyl cyclase from *Anabaena* is a self-activating cAMP switch. EMBO J. 21 : 3672—3680.

Kataoka T., *Broek D.*, *Wigler M. 1985.* DNA sequence and characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* gene encoding adenylyl cyclase. Cell. 43 : 493—505.

Kaushal D. C., *Carter R.*, *Miller L. H.*, *Krishna G. 1980.* Gametocytogenesis by malaria parasites in continuous culture. Nature. 286 : 490—492.

Kays A. M., *Rowley P. S.*, *Baasiri R. A.*, *Borkovich K. A. 2000.* Regulation of conidiation and adenylyl cyclase levels by the Gα protein GNA-2 in *Neurospora crassa*. Mol. Cell. Biol. 20 : 7693—7705.

Kido M., *Shima F.*, *Saton T.*, *Asato T.*, *Kariya-Ki K.*, *Kataoka T. 2002.* Critical function of the Ras-associated domain as a primary Ras-binding site for regulation of *Saccharomyces cerevisiae* adenylyl cyclase. J. Biol. Chem. 277 : 3117—3123.

Kim H. J., *Chang W. T.*, *Meima M.*, *Gross K. D.*, *Schaap P. 1998.* A novel adenylyl cyclase detected in rapidly developing mutants of *Dictyostelium*. J. Biol. Chem. 273 : 30 859—30 862.

Kitagawa K., *Skowyra D.*, *Elledge S. J.*, *Harper J. W.*, *Hieter P. 1999.* SGT1 encodes an essential components of the year kinetochore assembly pathway and a novel subunit of the SCF ubiquitin ligase complex. Mol. Cell. Biol. 4 : 21—33.

Kohidai L., *Katona J.*, *Csaba G. 2003.* Effects of steroid hormones on five functional parameters of *Tetrahymena*: evolutionary conclusions. Cell Biochem. Funct. 21 : 19—26.

Kore-eda S., *Murayama T.*, *Uno I. 1991.* Isolation and characterization of the adenylate cyclase structure gene of *Neurospora crassa*. Jap. J. Genet. 66 : 317—334.

Kothe G. O., *Free S. J. 1998.* The isolation and characterization of *nrc-1* and *nrc-2*, two genes encoding protein kinases that control growth and development in *Neurospora crassa*. Genetics. 149 : 117—130.

Kriebel P. W., *Parent C. A. 2004.* Adenylyl cyclase expression and regulation during the differentiation of *Dictyostelium discoideum*. IUBMB Life. 56 : 541—546.

Ksiazek D., *Brandstetter H.*, *Israel L.*, *Bourenkov G. P.*, *Katchalova G.*, *Janssen K. P.*, *Bartunik H. D.*, *Noegel A. A.*, *Schleicher M.*, *Holak T. A. 2003.* Structure of the N-terminal domain of the adenylyl cyclase-associated protein (CAP) from *Dictyostelium discoideum*. Structure. 11 : 1171—1178.

Kuble E., *Mosch H. U.*, *Rupp S.*, *Lisanti M. P. 1997.* Gpa2, a G-protein α subunit, regulates growth and pseudohyphal development in *Saccharomyces cerevisiae* via a cAMP-dependent mechanism. J. Biol. Chem. 272 : 20 321—20 323.

Labrecque J., *Deschenes J.*, *McNicoll N.*, *De Lean A. 2001.* Agonistic induction of a covalent dimer in a mutant of natriuretic peptide receptor-A documents a juxtamembrane interaction that accompanies receptor activation. J. Biol. Chem. 276 : 8064—8072.

Leberer E., *Harcus D.*, *Dignard D.*, *Johnson L.*, *Ushinsky S.*, *Thomas D. Y.*, *Schroppel K. 2001.* Ras links cellular morphogenesis to virulence by regulation of the MAP kinase and cAMP signalling pathways in the pathogenic fungus *Candida albicans*. Mol. Microbiol. 42 : 674—687.

Lee N., *D'Souza C. A.*, *Kronstad J. W. 2003.* Of smuts, blasts, mildews, and blights: cAMP signaling in phytopathogenic fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 41 : 399—427.

Lee S., *Comer F. I.*, *Sasaki A.*, *McLeod I. X.*, *Duong Y.*, *Okumura K.*, *Yates Iii J. R.*, *Parent C. A.*, *Firtel R. A. 2005.* TOR complex 2 integrates cell movement during chemotaxis and signal relay in *Dictyostelium*. Mol. Biol. Cell. 16 : 4572—4583.

Lee S., *Parent C. A.*, *Insall R.*, *Firtel R. A. 1999.* A novel Ras-interacting protein requires for chemotaxis and cyclic adenosine monophosphate signal relay in *Dictyostelium*. Mol. Biol. Cell. 10 : 2829—2845.

Lim C. J., *Spiegelman G. B.*, *Weeks G. 2001.* RasC is required for optimal activation of adenylyl cyclase and Akt/PKB during aggregation. EMBO J. 20 : 4490—4499.

Linder J. U., *Engel P.*, *Reimer A.*, *Kruger T.*, *Plattner H.*, *Schultz A.*, *Schultz J. E. 1999.* Guanylyl cyclases with the topology of mammalian adenylyl cyclases and an N-terminal P-type ATP-ase-like domain in *Paramecium*, *Tetrahymena* and *Plasmodium*. EMBO J. 18 : 4222—4232.

Lorenz M. C., *Heitman J. 1997.* Yeast pseudohyphal growth is regulated by GPA2, a G protein α homolog. EMBO J. 16 : 7008—7018.

Maidan M. M., *De Rop L.*, *Serneels J.*, *Exler S.*, *Rupp S.*, *Tournu H.*, *Thevelein J. M.*, *Van Dijck P. 2005.* The G protein-coupled receptor Gpr1 and the Gα protein Gpa2 act through the cAMP-protein kinase A pathway to induce morphogenesis in *Candida albicans*. Mol. Biol. Cell. 16 : 1971—1986.

Mallet L., *Renault G.*, *Jacquet M. 2000.* Functional cloning of the adenylyl cyclase gene of *Candida albicans* in *Saccharomyces cerevisiae* within a genomic fragment containing five other genes, including homologues of CHS6 and SAP185. Yeast. 16 : 959—966.

Manahan C. L., *Iglesias P. A.*, *Long Y.*, *Devreotes P. N. 2004.* Chemoattractant signaling in *Dictyostelium discoideum*. Annu. Rev. Cell. Develop. Biol. 20 : 223—254.

Mavoungou C., *Israel L.*, *Rehm T.*, *Ksiazek D.*, *Krajewski M.*, *Popowicz G.*, *Noegel A. A.*, *Schleicher M.*, *Holak T. A. 2004.* NMR structural characterization of the N-terminal domain of the adenylyl cyclase-associated protein (CAP) from *Dictyostelium discoideum*. J. Biomol. NMR. 29 : 73—84.

Meza I. 2000. Extracellular matrix-induced signaling in *Entamoeba histolytica*: its role in invasiveness. Parasitol. Today. 16 : 23—28.

Miwa T., *Takagi Y.*, *Shinozaki M.*, *Yun C.-W.*, *Schell W. A.*, *Perfect J. R.*, *Kumagai H.*, *Tamaki H. 2004.* Gpr1, a putative G-protein-coupled receptor, regulates morphogenesis and hypha formation in the pathogenic fungus *Candida albicans*. Eukaryot. Cell. 3 : 919—931.

Mougel C., Zhulin I. B. 2001. CHASE: an extracellular sensing domain common to transmembrane receptors from prokaryotes, lower eukaryotes and plants. Trends Biochem. Sci. 26 : 582—584.

Muhia D. K., Swales C. A., Eckstein-Ludwig U., Saran S., Polley S. D., Kelly J. M., Schaap P., Krishna S., Baker D. A. 2003. Multiple splice variants encode a novel adenylyl cyclase of possible plastid origin expressed in the sexual stage of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. J. Biol. Chem. 278 : 22 014—22 022.

Naula C., Schaub R., Leech V., Melville S., Seebeck T. 2001. Spontaneous dimerization and leucine-zipper induced activation of the recombinant catalytic domain of a new adenylyl cyclase of *Trypanosoma brucei*, GRESAG4.4B. Mol. Biochem. Parasitol. 112 : 19—28.

Nishida Y., Shima F., Sen H., Tanaka Y., Yanagihara C., Yamawaki-Kataoka Y., Kariya K., Kataoka T. 1998. Coiled-coil interaction of N-terminal 36 residues of cyclase-associated protein with adenylyl cyclase is sufficient for its function in *Saccharomyces cerevisiae* Ras pathway. J. Biol. Chem. 273 : 28 019—28 024.

Ntefidou M., Iseki M., Watanabe M., Lebert M., Hader D. P. 2003. Photoactivated adenylyl cyclase controls phototaxis in the flagellate *Euglena gracilis*. Plant Physiol. 133 : 1517—1521.

Ogihara H., Shima F., Naito K., Asato T., Kariya K.-I., Kataoka T. 2004. Direct activation of fission yeast adenylyl cyclase by heterotrimeric G protein gpa2. Kobe J. Med. Sci. 50 : 111—121.

Ott A., Oehme F., Keller H., Schuster S. C. 2000. Osmotic stress response in *Dictyostelium* is mediated by cAMP. EMBO J. 19 : 5782—5792.

Parent C. A., Borleis J., Devreotes P. N. 2002. Regulation of adenylyl cyclase by a region outside the minimally functional cytoplasmic domains. J. Biol. Chem. 277 : 1354—1360.

Parent C. A., Devreotes P. N. 1995. Isolation in inactive and G-protein resistant adenylyl cyclase mutants using random mutagenesis. J. Biol. Chem. 270 : 22 693—22 696.

Parent C. A., Devreotes P. N. 1996. Constitutively active adenylyl cyclase mutant requires neither G proteins nor cytosolic regulators. J. Biol. Chem. 271 : 18 333—18 336.

Parent C. A., Devreotes P. N. 1999. A cell's sense of direction. Science. 284 : 765—770.

Paveto C., Torres H. N., Flawia M. M., Garcia-Espitia M., Ortega A., Orozco E. 1999. *Entamoeba histolytica*: signaling through G proteins. Exp. Parasitol. 91 : 170—175.

Pitt G. S., Brandt R., Lin K. C., Devreotes P. N., Schaap P. 1993. Extracellular cAMP is sufficient to restore developmental gene expression and morphogenesis in *Dictyostelium* cells lacking the aggregation adenylyl cyclase (ACA). Genes Develop. 7 : 2172—2180.

Read L. K., Mikkelsen R. B. 1991. Comparison of adenylate cyclase and cAMP-dependent protein kinase in gametocytogenesis and nongametocytogenesis clones of *Plasmodium falciparum*. J. Parasiol. 77 : 346—352.

Rocha C. R., Schroppel K., Harcus D., Marcil A., Dignard D., Taylor B. N., Thomas D. Y., Whiteway M., Leberer E. 2001. Signaling through adenylyl cyclase is essential for hyphal growth and virulence in the pathogenic fungus *Candida albicans*. Mol. Biol. Cell. 12 : 3631—3643.

Rodriquez E., Lazaro M. I., Renaud F. L., Marino M. 2004. Opioid activity of β-endorphin-like proteins from *Tetrahymena*. J. Eukaryot. Microbiol. 51 : 60—65.

Roelofs J., Loovers H. M., van Haastert P. J. M. 2001a. GTPγS regulation of a 12-transmembrane guanylyl cyclase is retained after mutation to an adenylate cyclase. J. Biol. Chem. 276 : 40 740—40 745.

Roelofs J., Snippe H., Kleineidam R. G., van Haastert P. J. 2001b. Guanylate cyclase in *Dictyostelium discoideum* with the topology of mammalian adenylate cyclase. Biochem. J. 354 : 697—706.

Rolin S., Paindavoine P., Hanocq-Quertier J., Hanocq F., Claes Y., Le Ray D. et al. 1993. Transient adenylate cyclase activation accompanies differentiation of *Trypanosoma brucei* from bloodstream to procyclic forms. Mol. Biol. Parasitol. 61 : 115—125.

Rosner B. N., Bartholomew J. N., Gaines C. D., Riddle M. L., Everett H. A., Rulapaugh K. G., Nickerson L. E., Marshall M. R., Kuruvilla H. G. 2003. Biochemical evidence for a P2Y-like receptor in *Tetrahymena thermophila*. J. Comp. Physiol. 189 : 781—789.

Ross D. T., Raibaud A., Florent I. C., Sather S., Gross M. K., Storm D. R., Eisen H. 1991. The trypanosome VSG expression site encodes adenylate cyclase and a leucine-rich putative regulatory gene. EMBO J. 10 : 2047—2053.

Sanchez M. A., Zeoli D., Klamo E. M., Kavanaugh M. P., Landfear S. M. 1995. A family of putative receptor adenylate cyclase from *Leishmania donovani*. J. Biol. Chem. 270 : 17 551—17 558.

Santiago A., Carbajal M. E., Benitez-King G., Meza I. 1994. Entamoeba histolytica: PKC transduction pathway activation in the trophozoite-fibronectin interaction. Exp. Parasitol. 79 : 436—444.

Saran S., Meima M. E., Alvarez-Curto E., Weening K. E., Rozen D. E., Schaap P. 2002. cAMP signaling in *Dictyostelium*. J. Muscle Res. Cell Motility. 23 : 793—802.

Saran S., Schaap P. 2004. Adenylyl cyclase G is activated by an intramolecular osmosensor. Mol. Biol. Cell. 15 : 1479—1486.

Schadick K., Fourcade H. M., Boumenot P., Seitz J. J., Morrell J. L., Chang L., Gould K. L., Partridge J. F., Allshire R. C., Kitagawa K., Hieter P., Hofman C. S. 2002. Schizosaccharomyces pombe Git7p, a member of the *Saccharomyces cerevisiae* Sgt1p family, is required for glucose and cyclic AMP signaling, cell wall integrity, and separation. Eukaryot. Cell. 1 : 558—567.

Schultz J. E., Klumpp S. 1993. Cyclic nucleotides and calcium signaling in *Paramecium*. Adv. Second Messenger Phosphorylation Res. 27 : 25—46.

Schultz J. E., Klumpp S., Benz R., Schurhoff-Goeters W. J., Schmid A. 1992. Regulation of adenylyl cyclase from *Paramecium* by an intrinsic potassium conductance. Science. 255 : 600—603.

Seebeck T., Gong K. W., Kunz S., Schaub R., Shalaby T., Zoraghi R. 2001. cAMP signaling in *Trypanosoma brucei*. Int. J. Parasitol. 31 : 491—498.

Segall J. E., Kuspa A., Shulsky G., Ecke M., Maeda M., Gaskins C., Firtel R. A., Loomis W. F. 1995. A MAP kinase necessary for receptor-mediated activation of adenylyl cyclase in *Dictyostelium*. J. Cell Biol. 128 : 405—413.

Shima F., Okada T., Kido M., Sen H., Tanaka Y., Tamada M., Hu C.-D., Yamawaki-Kataoka Y., Kariya K.-I., Kataoka T. 2000. Association of yeast adenylyl cyclase with cyclase-associated protein CAP forms a second Ras-binding site which mediates its Ras-dependent activation. Mol. Cell. Biol. 20 : 26—33.

Shima F., Yamawaki-Kataoka Y., Yanagihara C., Tamada M., Okada T., Kariya K., Kataoka T. 1997. Effect of association with adenylyl cyclase-associated protein on the interaction of yeast adenylyl cyclase with Ras protein. Mol. Cell. Biol. 17 : 1057—1064.

Soderbom F., Anjard C., Iranfar N., Fuller D., Loomis W. F. 1999. An adenylyl cyclase that functions during late development of *Dictyostelium*. Development. 126 : 5463—5471.

Soid-Raggi L. G., Torres-Marquez M. E., Meza I. 1998. Entamoeba histolytica: identification of functional G_s and G_i proteins as possible signal transduction elements in the interaction of trophozoites with fibronectin. Exp. Parasitol. 90 : 262—269.

Stiefel J., Wang L., Kelly D. A., Janoo R. T. K., Seitz J., Whitehall S. K., Hoffman C. S. 2004. Suppressors of an adenylate cyclase deletion in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Eukaryot. Cell. 3 : 610—619.

Suzuki N., Choe H. R., Nishida Y., Yamawaki-Kataoka Y., Ohnishi S., Tamaoki T., Kataoka T. 1990. Leucine-rich repeats and carboxyl terminus are required for interaction of yeast adenylate cyclase with RAS proteins. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 87 : 871—875.

Taylor M. C., Muhia D. K., Baker D. A., Mondragon A., Schaap P. B., Kelly J. M. 1999. Trypanosoma cruzi adenylyl cyclase is encoded by a complex multigene family. Mol. Biochem. Parasitol. 104 : 205—217.

Trager W., Gill G. S. 1989. Plasmodium falciparum gametocyte formation *in vitro*: its stimulation by phorbol diesters and by 8-bromo cyclic adenosine monophosphate. J. Protozool. 36 : 451—454.

Van Es S., Virdy K. J., Pitt G. S., Meima M., Sands T. W., Devreotes P. N., Cotter D. A., Schaap P. 1996. Adenylyl cyclase G, an

osmosensor controlling germination of *Dictyostelium discoideum*. J. Biol. Chem. 271 : 23 623—23 625.

Vassella E., *Reuner B.*, *Yutzy B.*, *Boshart M. 1997.* Differentiation of African trypanosomes is controlled by a density sensing mechanism which signals cell cycle arrest via the cAMP pathway. J. Cell Sci. 110 : 2661—2671.

Virdy K. J., *Sands T. W.*, *Kopko S. H.*, *Van Es S.*, *Meima M.*, *Schaap P.*, *Cotter D. A. 1999.* High cAMP in spores of *Dictyostelium discoideum*: association with spore dormancy and inhibition of germination. Microbiology. 145 : 1883—1890.

Weber J. H., *Vishnyakov A.*, *Hambach K.*, *Schultz A.*, *Schultz J. E.*, *Linder J. U. 2004.* Adenylyl cyclases from *Plasmodium*, *Paramecium* and *Tetrahymena* are novel ion channel/enzyme fusion proteins. Cell. Signall. 16 : 115—125.

Xue C., *Bahn Y. S.*, *Cox G. M.*, *Heitman J. 2006.* G protein-coupled receptor Gpr4 senses amino acids and activates the cAMP-PKA pathway in *Cryptococcus neoformans*. Mol. Biol. Cell. 17 : 667—679.

Yang Q., *Borkovich K. A. 1999.* Mutation activation of a $G\alpha_i$ causes uncontrolled proliferation of aerial hyphae and increased sensitivity to heat and oxidative stress in *Neurospora crassa*. Genetics. 151 : 107—117.

Young D., *Riggs M.*, *Field J.*, *Vojtek A.*, *Broek D.*, *Wigler M. 1989.* The adenylyl cyclase gene from *Schizosaccharomyces pombe*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 86 : 7989—7993.

Yu S., *Avery L.*, *Baude E.*, *Garbers D. L. 1997.* Guanylyl cyclase expression in specific sensory neurons: a new family of chemosensory receptors. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 94 : 3384—3387.

Поступила 18 V 2006

STRUCTURAL-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF THE ADENYLYL CYCLASES IN UNICELLULAR EUKARYOTES AND MOLECULAR MECHANISMS OF ITS REGULATION

A. O. Shpakov

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

At the present time, adenylyl cyclases (ACs) — the enzymes, catalyzing the formation of second messenger cAMP, were found in yeasts and related fungi, amoeba *Dictyostelium discoideum*, flagellates, malaria plasmodium, ciliates. However, structural-functional organization of the ACs and molecular mechanisms of its regulation are different to great extent. The scores of structurally related ACs, one time penetrating the membrane and possessing the receptor function, were identified in flagellates. Three types of ACs, strongly differed in the topology, the domain organization and the sensitivity to regulatory molecules and physical factors, were found in amoeba *D. discoideum*. One of them (AC-A) is close to membrane-bound ACs of the mammals and can be regulated by extracellular cAMP. It was shown that the enzymes of the yeasts, lacking the transmembrane domains, formed the intermolecular complexes, which were stabilized by the interactions between leucine-rich repeat regions. The data presented in the review give evidence that the main molecular mechanisms of the functioning of vertebrate ACs were formed in unicellular organisms and fungi. At the same time the structure and functions of the ACs of the lower eukaryotes are strongly varied. It can be connected with the special features of life cycle of the lower eukaryotes and with the realization of different models of functioning and regulation of cAMP-dependent cascades at the earlier steps of evolution.