

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАФТОВ

© С. Н. Плескова,¹ Е. Е. Пудовкина²

¹ Научно-образовательный центр «Физика твердотельных наноструктур»
Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского

и ² Кафедра биотехнологии, физической и аналитической химии
Нижегородского государственного технического университета им. П. Е. Алексеева;

¹электронный адрес: pleskova@mail.ru

Переосмысление роли липидов, входящих в состав мембран, и формирование нового взгляда на морфологию, организацию и функционирование мембран в последнее время произошли благодаря активному изучению особых мембранных кластеров — рафтов (от англ. raft — плот). В настоящем обзоре суммированы современные данные о морфологии, биофизических и биохимических свойствах рафтов, описаны структура, форма и основные маркирующие протеины функциональных микродоменов.

Ключевые слова: мембрана, рафты, кавеолы.

Принятые сокращения: ГФИ — гликозилфосфатидилинозитол, ЭР — эндоплазматический ретикулум.

Основными движущими силами самосборки липидов в бислоиные структуры биологических мембран являются гидрофобные эффекты и электростатические взаимодействия (Tresset, 2009). Поскольку внутренняя и наружная поверхности липидного бислоя содержат в себе разные молекулы, мембрана имеет разную кривизну. Модуль средней кривизны мембраны зависит от ее биохимической композиции (в том числе наличия амфифильных молекул), температуры и ионного окружения (Haverstick, Glaser, 1988; Daillant et al., 2005; Pan et al., 2008). Кроме того, в экспериментах по созданию искусственных мембран отмечено, что неоднородность липидного бислоя максимально проявляет себя при смешивании двух фаз — жидкостно-упорядоченной и жидкостно-неупорядоченной. Разделение фаз приводит к формированию латеральной сегрегации и возникновению в мембране специализированных микродоменов — рафтов, имеющих свойства жидкостно-упорядоченной фазы (Simons, Koppen, 1997; Brown, 2002). Однако не только наличие жидкостно-упорядоченной фазы делает возможным формирование функциональных микродоменов, поскольку в клеточной мембране фрагменты жидкостно-упорядоченных композиций встречаются и вне рафтов (Barenholz, 2004). Основными отличиями, характеризующими микродоменные структуры, является их особый биохимический состав и биофизические свойства.

Рафт — это мембранная структура, представляющая собой функциональную платформу, контролирующую большое количество клеточных функций (Simons, Ehehalt, 2002), которую характеризуют наличие упорядоченности в жидкости (Gioscondi et al., 2010), обогащенность холестерином и липидами, образованными насыщенными жирными кислотами (прежде всего сфинголипидами) (Fridriksson et al., 1999), высокая динамич-

ность, короткое время жизни (Pinaud et al., 2009) и малые размеры (Pralle et al., 2000).

Основные биохимические компоненты, из которых состоит рафт, представлены на рис. 1.

Динамические ансамбли рафтов образованы прежде всего холестерином и сфинголипидами (Rietveld, Simons, 1998). Основные сфинголипиды млекопитающих, входящие в состав рафтов, — сфингомиелин (до 15 % всего липидного состава рафтов) и гликозилсфинголипиды. Гидрофобным остовом молекул является керамид, гликозилированная форма которого представлена гликозилцерамидом, реже галактозилцерамидом (Van Meer, Lisman, 2002). Поскольку сфинголипиды содержат преимущественно насыщенные жирные кислоты (крайне редко транс-ненасыщенные), холестерин получает возможность плотно встраиваться между ними, придавая рафту еще более жесткую ориентированность (Niemelä et al., 2007). Содержание холестерина в функциональных микродоменах в 3—5 раз превышает его концентрацию в остальной (не рафтовой) части мембраны (Prinetti et al., 2000). Таким образом, микрокластеры приобретают большую упорядоченность, большую ригидность и большую высоту по сравнению с остальной частью липидного бислоя, где преобладают фосфолипиды с ненасыщенными жирными кислотами, образующими кинки (изгибы) и имеющими по этой причине куда менее плотную упаковку (Lingwood, Simons, 2010). Еще одной структурной особенностью рафтов является разный липидный состав цитоплазматической и внешней части микродомена. Если основным компонентом внешней части является сфингомиелин, то во внутренней части преобладают фосфатидилэтанол-амин и фосфатидилсерин (Pike, 2003; Quinn, 2010). Модификация липидной композиции отражается на пластичности, текучести, ригидности и температуре плавления раф-

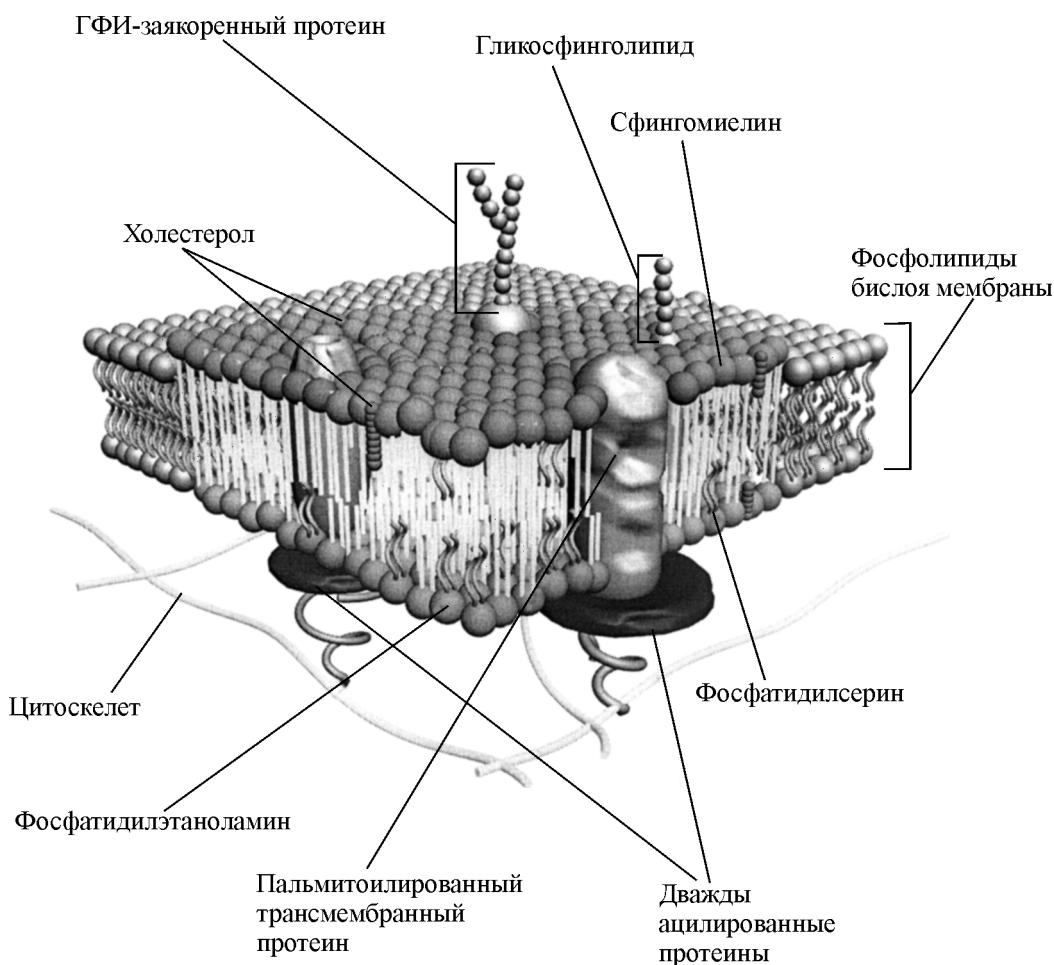


Рис. 1. Модель строения мембранного рафта.

Рафт характеризуется наличием большого количества сфинголипидов (сфингомиелина и гликофосфинголипидов) и холестерина. Молекулы холестерина плотно встраиваются между сфинголипидами благодаря строгой ориентированности ацильных цепей, образованных насыщенными жирными кислотами. Сфингомиелин является основным компонентом внешней части микродомена, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин преобладают в цитоплазматической части. Протеиновый состав рафта характеризуется наличием белков, заякоренных через гликозилфосфатидилинозитол (ГФИ), дважды ацилированных (на внутренней части мембраны) и частично пальмитоилированных трансмембранных белков.

тов. Помимо биофизических особенностей это различие оказывает влияние и на функции микродоменов, поскольку липиды, входящие в состав рафтов, могут выступать в качестве первичных и вторичных мессенджеров в процессах молекулярного распознавания и сигнальной трансдукции (Catalá, 2012). Кроме того, внутренний липидный слой ассоциирован с цитоскелетом и адапторными протеинами, поэтому его биохимический состав имеет принципиальное значение, поскольку спектр специфически взаимодействует с фосфатидилсерин, а белки-адапторы, содержащие мотивы FYVE и PX, — с фосфатидилинозитолом (Jakobson et al., 2007).

Размеры кластеров невелики. Обычно их начинают распознавать как функциональный микродомен, в случае когда они объединяют более 100 молекул и время их жизни превышает стохастическую кластеризацию, контролируемую диффузией (Van Meer et al., 2008). Самый маленький нанокластером, чувствительным к истощению по холестерину и зафиксированным к настоящему времени, является рецептор нейрокинин-1. Методом FRET (fluorescence resonance energy transfer) установлено, что его размеры менее 10 нм и что он содержит менее 4 гликозилфосфатидилинозитол-заякоренных протеинов (ГФИ) (Meyer et al., 2006).

Благодаря морфологическим особенностям, созданным разными липидными молекулами, белки получают возможность физического и пространственного разделения на мембране в зависимости от биохимического состава и выполняемых функций (Dolganuc, 2011). Если по липидному составу у разных функциональных микродоменов различий практически не обнаруживается, то белки, маркирующие рафты, различаются (Simons, Tomge, 2000). Особенно высокое сродство к рафтам обнаруживают следующие белки: ГФИ-заякоренные (Suzuki et al., 2012), дважды ацилированные, например представители семейства Src-киназ или α -субъединица гетеротримера G-белка (Resh, 1999), и частично пальмитоилированные трансмембранные белки (Brown, London, 1998). Эндоплазматическая часть рафтов стабилизируется протеинами, заякоренными в мембране тоже благодаря остаткам жирных кислот (пальмитоилированными миристоилированными формами белков) (Шмиголь, 2002). Большинство протеинов, рекрутированных в состав рафтов, подвергаются сложному процессингу в аппарате Гольджи. В частности, там происходит пальмитоилирование с помощью пальмитоилтрансферазы (Lu et al., 2012). При этом ряд белков, в том числе ГФИ-заякоренные, требуют наличия специальных переносчиков от

места синтеза (ЭР) до аппарата Гольджи (Bonnon et al., 2010).

Маркерами рафтов млекопитающих являются прохибитины (prohibitins), флотиллины (flotillins), стоматин (stomatin), стоматин-подобные протеины (stomatin-like proteins — SLPs), подоцин (podocin) и эрлины (erlins). При этом на плазматических мембранах клеток обнаруживаются только флотиллин-1, флотиллин-2 и стоматин, которые считаются специфическими маркерами планарных рафтов цитоплазматических мембран (Browman et al., 2007). Прохибитин, флотиллин и стоматин относятся к одному семейству эволюционно консервативных белков, поскольку содержат так называемый прохибитиновый домен, обнаруживаемый и у прокариот, и эукариот (Rajendran et al., 2009). В составе рафтов мембран специализированных клеток обнаружены стоматин-подобный протеин 3 (на нейронах) и подоцин (на подоцитах) (Browman et al., 2007). Специфические маркерные белки рафтов придают дополнительную асимметрию мембране. Показано их участие в фундаментальных клеточных процессах — делении, миграции, экзо- и эндоцитозе, стимулзависимой активации и поляризации клеток, образовании иммунологического синапса (Rajendran et al., 2009).

Идентичный биохимический состав, но выраженную функциональную специфику обнаруживают протеины, входящие в состав рафтов клеточных органелл. В частности, для рафтов митохондрий характерно включение таких белков, как инозитол 1,4,5-трифосфатный рецептор 3-го типа, потенциалзависимый анионный канал 1 (участвующие в регуляции кальция) и эрлин-2 (Poston et al., 2011), для рафтов эндоплазматического ретикулума — эрлин-1 (с неустановленными пока функциями) и эрлин-2 (участвующий в процессах деградации протеинов в ЭР) (Browman et al., 2006). Установлена прямая связь специфических протеинов, рекрутированных в состав рафтов внутриклеточных органелл, с фундаментальными клеточными процессами. Например, показано, что потенциалзависимый анионный канал 1 (voltage-dependent anion channel 1) и белок hFis (fission protein), обнаруженные в составе рафтов митохондриальных мембран, участвуют в инициации апоптоза (Garofalo et al., 2005; Ciarlo et al., 2010). Эрлин-2, напротив, облегчает адаптацию клеток к стрессу, поддерживает клеточный рост и защищает клетки от ЭР-опосредованной клеточной гибели (Wang et al., 2012).

Вместе с тем вопросы, связанные с рафтами мембран внутриклеточных органелл, остаются остро дискуссионными. В некоторых работах они фигурируют не как рафты, а как рафт-подобные структуры (lipid raft-like microdomains). Основные сомнения связаны с количественным анализом содержания холестерина. В частности, несмотря на то что холестерин синтезируется в ЭР, его содержание в мембранах ЭР составляет всего 0.1—2.0 моль %, тогда как в цитоплазматической мембране фибробластов — 20—35 моль %. Однако большинство исследователей сходятся во мнении что во внутриклеточных мембранах присутствуют полноценные рафты, но их размеры меньше, а концентрация ниже. Не исключен и факт отличия их биохимического состава от микродоменов плазматической мембраны, когда наряду с относительно низкими концентрациями холестерина и гликофинголипидов обнаруживаются повышенные концентрации церамида (Browman et al., 2006).

Для выделения рафтов из мембран активно используются поверхностно-активные вещества (ПАВ) с последу-

ющим разделением в градиенте сахарозы. Именно устойчивость к детергентам обусловила в свое время одно из названий рафтов (detergent-resistant membranes). Однако очень быстро выяснилось, что ПАВ обладают разной селективностью, поэтому при использовании тритона, твина, либрола и др. количественный и качественный состав рафтов существенным образом различается (Schuck et al., 2003). Именно по этой причине сейчас нет устоявшейся канонической модели рафтов. Описываются (Pike, 2004) 3 гипотетические структуры рафта: 1) рафт, в центре которого располагается кор, в котором обнаруживаются только высокоориентированные липиды (максимально обогащен холестерином и сфингомиелином), а на периферии рафта упорядоченность уменьшается; 2) рафт, имеющий абсолютно однородную структуру, а разные детергенты извлекают из него разные белки и липиды, чем обусловлены разные биохимические композиции его при смене ПАВ; 3) рафты с чрезвычайно гетерогенными структурами, поэтому их нельзя описать одной моделью, некоторые из них более чувствительны к Тритону X-100, другие к либролу и т. д.

Долгое время не было единого взгляда и на размеры рафтов. Их диаметр варьировал, по разным оценочным суждениям, от десятков (50) до тысяч (5000) нм (Yeichiel, Edidin, 1987; Schütz et al., 2000). Отсутствие четких границ размеров функциональных микродоменов объяснялось не столько несовершенством используемых для оценок методов, сколько полиморфностью самих рафтов. Наиболее используемыми методами определения размеров рафтов были следующие.

1. Экстрагирование из мембран с помощью ПАВ, разделение устойчивых к детергентам фрагментов в градиенте сахарозы с последующим анализом размеров. Однако низкая селективность детергентов приводила к удалению из состава рафтов некоторых специфических белков, в то время как детергент-устойчивые элементы цитоскелета экстрагировались совместно с рафтом и оба фактора существенным образом искажали размеры нативных структур (Giocondi et al., 2000). Даже разные концентрации одного и того же детергента могут привести к существенным различиям как в составе, так и в площади функциональных микродоменов (Babychuk, Draeger, 2006).

2. Флуоресцентная микроскопия, например с использованием в качестве зонда лаурдана (laurdan), который высокочувствителен к изменению мембранной текучести и позволяет ориентировочно определять размеры рафтов (Gaus et al., 2003).

3. Еще более прицельными методами, позволяющими оперировать уровнем единичных молекул, являются микроскопия, отслеживающая движения единичных флуорофоров (single fluorophore tracking microscopy) (Yeichiel, Edidin, 1987), и микроскопия снижения стимулированной эмиссии (stimulated emission depletion) (Eggeling et al., 2009).

Несомненным преимуществом этих методов является возможность исследования молекул и функциональных микродоменов непосредственно в нативных мембранах, а недостатки, как правило, объясняются эффектами, связанными с волновой природой света.

Из визуальных неинвазивных методов особый интерес представляют флуоресцентный резонансный перенос энергии (FRET) (Kenworthy et al., 2000), метод иммунофлуоресцентной микроскопии (immunofluorescence microscopy) (Janes et al., 1999) и метод химического перекрестного связывания рафтоассоциированных белков (Friedric-

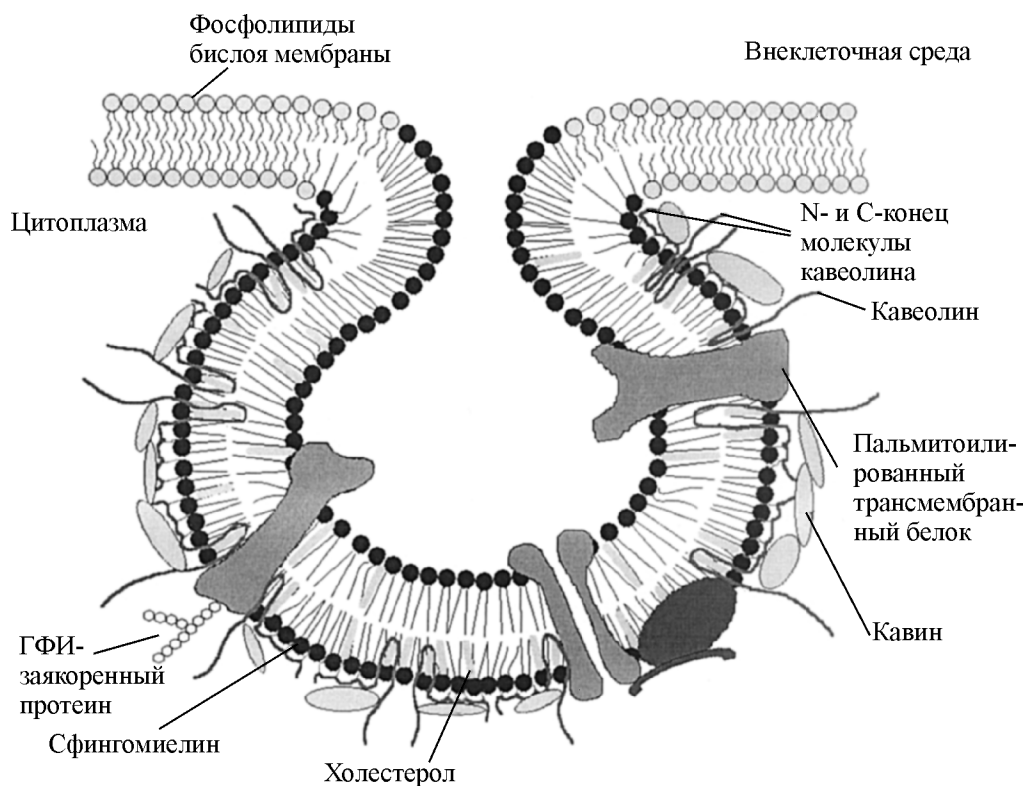


Рис. 2. Схематическое изображение кавеолы — особого типа функциональных микродоменов, формирующих колбообразную инвагинацию.

Формирование инвагинации обусловлено полимеризацией кавеолина. Липидный состав и основные функциональные протеины аналогичны у кавеол и рафтов. Маркерными протеинами кавеол являются кавеолины и кавины.

hson, Kurzchalia, 1998). Эти 3 метода помогли понять возможный механизм формирования функциональных микродоменов и определить чрезвычайно важную роль белков в этом процессе. Согласно данным, полученным на основе исследования механизмов преактивации клеток, сначала рафты представляют собой нанокластеры (размером около 10 нм). Их стабильность и время жизни зависят от количества белков, инкорпорированных в рафт, от количества и качества нерафтовых белков, от величины поверхностного натяжения на границе раздела рафта и жидкостно-неупорядоченного фосфолипидного окружения и от связывания внутренних компонентов рафта с элементами цитоскелета (Jacobson et al., 2007). При функциональной нагрузке клетки, например при сборке Т-клеточного рецептора у лимфоцитов, происходит объединение рафтов в более крупные структуры размером от 50 до 200 нм (Parton, Hancock, 2004). Перекрестное сшивание белков, входящих в состав разных рафтов (например, антителами), или активация клетки (например, в процессе адгезии) приводит к еще большему укрупнению структур и формированию рафтовых платформ или функциональных микродоменов, в некоторых случаях даже рафтовых фаз, размеры которых измеряются уже микрометрами, а время жизни достигает десятка секунд (Heijnen et al., 2003; Stefl et al., 2012). Таким образом, кажущиеся противоречия в определении размеров рафтов были сняты: одновременно на мембране клетки могут существовать и наноразмерные, короткоживущие рафты, и более крупные и стабильные микрокластеры.

Особым вариантом функциональных микродоменов являются кавеолы. Они формируют инвагинацию — колбообразное углубление мембраны диаметром около

25—100 нм (Thorn et al., 2003). Схематическое изображение кавеолы представлено на рис. 2.

Кавеола — это наноразмерная колбообразная инвагинация в направлении цитозоля жидкостно-упорядоченного фрагмента мембраны, обусловленная полимеризацией специфического белка кавеолина (Pilch, Liu, 2011; Sowa, 2012). Кавеолы способны сливаться в более крупные структуры, размеры которых значительно превышают 150 нм (Scherer et al., 1994). Это происходит в процессе везикулярного трафика. Кавеолы, отпочковываясь от мембраны, образуют в цитоплазме как классические везикулы, так и объединенные, более сложные морфологические конструкции. В частности, в поперечнополосатых мышечных клетках обнаруживаются везикулы в форме гроздьев винограда (Simionescu et al., 1975), в адипоцитах — в форме розеток (Scherer et al., 1994), а в эндотелиальных клетках — либо классические везикулы, либо формируются длинные вытянутые трубчатые структуры, которые в некоторых случаях образуют полноценные трансцеллюлярные каналы (Razani et al., 2002).

Принадлежность кавеол к функциональным микродоменам определяется по абсолютной тождественности их липидных составов (Schnitzer et al., 1995). В составе кавеол обнаружено трехкратное увеличение содержания холестерина и двукратное сфингомиелина по сравнению с нерафтовыми участками мембраны (Ortengren et al., 2004). Однако количество и соотношение липидов (холестерина, ганглиозидов, сфингомиелина, церамида и др.) существенно варьируют в кавеолах, выделенных из разных клеток (Smart et al., 1999). Биохимическая идентичность липидной основы обуславливает рекрутирование в состав кавеол ГФИ-заякоренных белков (Paulick, Bertoz-

зи, 2008), G-белков, аденилатциклазы, NO-синтазы, тирозинкиназы и других ацилированных протеинов (Shaul, Anderson, 1998). Таким образом, сходство липидного состава обеспечивает и тождественность основных функциональных белков.

Однако маркерные кавеоллярные белки имеют особое строение и играют важнейшую роль в формировании структуры самих кавеол. Основными маркерами являются кавеолыны и кавины (cavin). Кавеолыны — это группа интегральных белков, имеющих гидрофобную петлю, которая встраивается в липидный бислой в виде шпильки так, что и N- и C-концевые фрагменты свободно располагаются в цитозоле (Kurzychalia et al., 1992). Прочная и стабильная связь с холестерином возникает благодаря пальмитоилрованию цистеиновых остатков кавеолынов (Monier et al., 1996). Различают 3 представителя семейства кавеолынов. Кавеолин-1 и кавеолин-2 коэкспрессируются повсеместно, тогда как кавеолин-3 специфичен для клеток мышечных тканей (Williams, Lisanti, 2004). Кавеолин-1 и кавеолин-2 тесно взаимодействуют друг с другом и образуют единый гетеро-олигомерный комплекс, приводящий к формированию кавеолы (Sowa, 2011). Определенное регуляторное значение имеют две разные изоформы кавеолына-1 (α и β), эволюционно консервативные. Кавеолин-1 играет основную роль в процессе формирования кавеолы, поскольку при низком уровне его экспрессии кавеолы не образуются, а при гиперэкспрессии, напротив, повышено содержание кавеол в плазмолемме. Кроме того, кавеолин-1 отвечает за архитектуру кавеол (Jin et al., 2011). В отсутствие кавеолына-1 происходит деградиация уже синтезированного кавеолына-2, а экспрессия протеина *de novo* в значительной степени подавляется (Sowa, 2011). Кавеолин-3 локализуется только в сарколемме, где образует комплекс с другим маркером мышечных клеток — дистрофином — и выполняет специфичные для мышечных тканей функции (Song et al., 1996). Поэтому кавеолин-3 экспрессируется исключительно в клетках гладкой и поперечнополосатой (как мышечной, так и сердечной) тканях (Jin et al., 2011).

Описаны 4 представителя семейства кавинов (кавин-1, кавин-2, кавин-3 и кавин-4), которые также являются специфичными для кавеол. Кавин-1 и кавин-2 играют существенную роль в биогенезе кавеол, регулируя их количество и морфологическую форму, кавин-3 выполняет функцию регуляции внутриклеточного везикулярного транспорта (он участвует в процессе превращения кавеол в везикулы). Кавин-4 по аналогии с кавеолыном-3 является специфическим маркером кавеол мышечных клеток (Briand et al., 2011). Таким образом, в структуре нативных кавеол можно выделить 3 условных слоя: 1) специфический липидный бислой, обогащенный холестерином и сфинголипидами; 2) интегральная цитоплазматическая часть инвагинации, формируемая за счет шпилькообразного белка кавеолына; 3) периферический слой белков, сформированный кавиновым комплексом (Hayer et al., 2009).

Изгибу мембран с последующим формированием колбообразной инвагинации способствует не только полимеризация кавеолынов. В формировании кавеол большую роль играет асимметричное распределение липидов разных классов во внешнем и внутреннем (цитоплазматическом) фрагментах бислоя кавеол. Такая асимметрия приводит к локальному изменению поверхностной кривизны и формированию складчатой структуры. При этом на границе с основной (плоской) мембраной формируется

повышенное напряжение, минимизирующее энтропию. В последующем, при формировании инвагинации, это межфазное натяжение в значительной степени уменьшается. Однако предполагается, что кавеолин в процессе формирования инвагинации играет как минимум две роли. Во-первых, полимеризация белка приводит к изменению локального натяжения и как следствие к формированию кавеолы. Во-вторых, благодаря особому строению (наличию пальмитоилированного фрагмента у —COOH-конца) кавеолин способен рекрутировать определенные липиды во внутренний слой, вызывая локальную асимметрию мембраны (Rietveld, Simons, 1998).

Поскольку кавеола имеет достаточно продолжительное время жизни и образует характерную инвагинацию, обнаружены они были гораздо раньше методом электронной микроскопии (Moore, Ruska, 1957). Авторы, впервые описавшие их более полувека назад (Palade, 1953; Yamada, 1955), отметили кавеолы как «мелкие структуры». Кавеолы распространены повсеместно, но в наибольшем количестве встречаются на эндотелиальных клетках — 73 кавеолы на 1 μm^2 (Gabella, Blundell, 1978).

Таким образом, рафты отличаются особым биохимическим составом липидов и белков, который определяет структуру и морфологию функциональных микродоменов и вызывает латеральную сегрегацию мембран.

Список литературы

- Шмиголь И. Г. 2002. Изучение липидных микродоменов (рафтов) лейкоцитов человека с помощью проточной цитометрии: Автореф. канд. дис. М. 19 с.
- Babiychuk E. B., Draeger A. 2006. Biochemical characterization of detergent-resistant membranes: a systematic approach. *Biochem. J.* 397: 407—416.
- Barenholz Y. 2004. Sphingomyelin and cholesterol: from membrane biophysics and rafts to potential medical applications. *Subcell Biochem.* 37: 167—215.
- Bonnon C., Wendeler M. W., Paccaud J. P., Hauri H. P. 2010. Selective export of human GPI-anchored proteins from the endoplasmic reticulum. *J. Cell. Sci.* 123: 1705—1715.
- Briand N., Dugail I., Le Lay S. 2011. Cavin proteins: new players in the caveolae field. *Biochimie.* 93: 71—77.
- Browman D. T., Hoegg M. B., Robbins S. M. 2007. The SPFH domain-containing proteins: more than lipid raft markers. *Trends Cell Biol.* 17: 394—402.
- Browman D. T., Resek M. E., Zajchowski L. D., Robbins S. M. 2006. Erlin-1 and erlin-2 are novel members of the prohibitin family of proteins that define lipid-raft-like domains of the ER. *J. Cell Sci.* 119: 3149.
- Brown D. 2002. Structure and function of membrane rafts. *Int. J. Med. Microbiol.* 291: 433—437.
- Brown D. A., London E. 1998. Functions of lipid rafts in biological membranes. *Annu. Rev. Cell. Develop. Biol.* 14: 111—136.
- Catalá A. 2012. Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the «Fluid Mosaic Model» to the «Lipid Whisker Model». *Biochimie.* 94: 101—109.
- Ciarlo L., Manganelli V., Garofalo T., Matarrese P., Tinari A., Misasi R., Malorni W., Sorice M. 2010. Association of fission proteins with mitochondrial raft-like domains. *Cell Death Differ.* 17: 1047—1058.
- Daillant J., Bellet-Amalric E., Braslau A., Charitat T., Fragneto G., Graner F., Mora S., Rieutord F., Stidder B. 2005. Structure and fluctuations of a single floating lipid bilayer. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102: 11 639—11 644.
- Dolganic A. 2011. Role of lipid rafts in liver health and disease. *World J. Gastroenterol.* 17: 2520—2535.
- Eggeling C., Ringemann C., Medda R., Schwarzmann G., Sandhoff K., Polyakova S., Belov V. N., Hein B., von Middendorff C.,

- Schonle A., Hell S. W. 2009. Direct observation of the nanoscale dynamics of membrane lipids in a living cell. *Nature*. 457 : 1159—1162.
- Fridriksson E. K., Shipkova P. A., Sheets E. D., Holowka D., Baird B., McLafferty F. W. 1999. Quantitative analysis of phospholipids in functionally important membrane domains from RBL-2H3 mast cells using tandem high-resolution mass spectrometry. *Biochemistry*. 38 : 8056—8063.
- Friedrichson T., Kurzchalia T. V. 1998. Microdomains of GPI-anchored proteins in living cells revealed by crosslinking. *Nature*. 394 : 802—805.
- Gabella G., Blundell D. 1978. Effect of stretch and contraction on caveolae of smooth-muscle cells. *Cell. Tissue Res.* 190 : 255—271.
- Garofalo T., Giammarioli A. M., Misasi R., Tinari A., Manganello V., Gambardella L., Pavan A., Malorni W., Sorice M. 2005. Lipid microdomains contribute to apoptosis-associated modifications of mitochondria in T cells. *Cell Death Differ.* 12 : 1378—1389.
- Gaus K., Gratton E., Kable E. P. W., Jones A. S., Gelissen I., Kritharides L., Jessup W. 2003. Visualizing lipid structure and raft domains in living cells with two-photon microscopy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 15 554—15 559.
- Giocondi M. C., Viè V., Lesniewska E., Goudonnet J. P., Le Grimellec C. 2000. *In situ* imaging of detergent-resistant membranes by atomic force microscopy. *J. Struct. Biol.* 131 : 38—43.
- Giocondi M. C., Yamamoto D., Lesniewska E., Milhiet P. E., Ando T., Le Grimellec C. 2010. Surface topography of membrane domains. *Biochim. biophys. acta*. 1798 : 703—718.
- Haverstick D. M., Glaser M. 1988. Visualization of domain formation in the inner and outer leaflets of a phospholipid bilayer. *J. Cell Biol.* 106 : 1885—1892.
- Hayer A., Stoeber M., Bissig C., Helenius A. 2009. Biogenesis of caveolae: stepwise assembly of large caveolin and cavin complexes. *Traffic*. 11 : 361—382.
- Heijnen H. F., Van Lier M., Waaijenborg S., Ohno-Iwashita Y., Waheed A. A., Inomata M., Gortier G., Mobius W., Akkerman J. W., Slot J. W. 2003. Concentration of rafts in platelet filopodia correlates with recruitment of c-Src and CD63 to these domains. *J. Thromb. Haemost.* 16 : 1161—1173.
- Jacobson K., Mouritsen O. G., Anderson R. G., 2007. Lipid rafts: at a crossroad between cell biology and physics. *Nat. Cell Biol.* 9 : 7—14.
- Janes P. W., Ley S. C., Magee A. I. 1999. Aggregation of lipid rafts accompanies signaling via the T cell antigen receptor. *J. Cell Biol.* 147 : 447—461.
- Jin Y., Lee S. J., Minshall R. D., Choi A. M. 2011. Caveolin-1: a critical regulator of lung injury. *Amer. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 300 : L151—L160.
- Kenworthy A. K., Petranova N., Edidin M. 2000. High-resolution FRET microscopy of cholera toxin B-subunit and GPI-anchored proteins in cell plasma membranes. *Mol. Biol. Cell*. 11 : 1645—1655.
- Kurzchalia T. V., Dupree P., Parton R. G., Kellner R., Virta H., Lehnert M., Simons K. 1992. VIP21, a 21-kD membrane protein is an integral component of trans-Golgi-network-derived transport vesicles. *J. Cell Biol.* 118 : 1003—1014.
- Lingwood D., Simons K. 2010. Lipid rafts as a membrane-organizing principle. *Science*. 327 : 46—50.
- Lu D., Sun H. Q., Wang H., Barylko B., Fukata Y., Fukata M., Albanesi J. P., Yin H. L. 2012. Phosphatidylinositol 4-kinase II α is palmitoylated by Golgi-localized palmitoyltransferases in cholesterol-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 287 : 21 856—21 865.
- Meyer B. H., Segura J. M., Martinez K. L., Hovius R., George N., Johnsson K., Vogel H. 2006. FRET imaging reveals that functional neurokinin-1 receptors are monomeric and reside in membrane microdomains of live cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 103 : 2138—2143.
- Monier S., Dietzen D. J., Hastings W. R., Lublin D. M., Kurzchalia T. V. 1996. Oligomerization of VIP21-caveolin *in vitro* is stabilized by long chain fatty acylation or cholesterol. *FEBS Lett.* 388 : 143—149.
- Moore D. H., Ruska H. 1957. The fine structure of capillaries and small arteries. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 3 : 457—462.
- Niemelä P. S., Ollila S., Hyvonen M. T., Karttunen M., Vattulainen I. 2007. Assessing the nature of lipid raft membranes. *PLoS Com. Biol.* 3 : 0304—0312.
- Ortegren U., Karlsson M., Blazic N., Blomqvist M., Nyström F. H., Gustavsson J., Fredman P., Strålfors P. 2004. Lipids and glycosphingolipids in caveolae and surrounding plasma membrane of primary rat adipocytes. *Eur. J. Biochem.* 271 : 2028—2036.
- Palade G. E. 1953. Fine structure of blood capillaries. *J. Appl. Physiol.* 24 : 1424.
- Pan J., Mills T. T., Tristram-Nagle S., Nagle J. F. 2008. Cholesterol perturbs lipid bilayers nonuniversally. *Phys. Rev. Lett.* 100 : 198103.
- Parton R. G., Hancock J. F. 2004. Lipid rafts and plasma membrane microorganization: insights from Ras. *Trends Cell Biol.* 14 : 141—147.
- Paulick M. G., Bertozzi C. R. 2008. The glycosylphosphatidylinositol anchor: a complex membrane-anchoring structure for proteins. *Biochemistry*. 47 : 6991—7000.
- Pike L. J. 2003. Lipid rafts: bringing order to chaos. *J. Lipid Res.* 44 : 655—667.
- Pike L. J. 2004. Lipid rafts: heterogeneity on the high seas. *Biochem. J.* 378 : 281—292.
- Pilch P. F., Liu L. 2011. Fat caves: caveolae, lipid trafficking and lipid metabolism in adipocytes. *Trends Endocrinol. Metab.* 22 : 318—324.
- Pinaud F., Michalet X., Iyer G., Margeat E., Moore H. P., Weiss S. 2009. Dynamic partitioning of a glycosyl-phosphatidylinositol-anchored protein in glycosphingolipid-rich microdomains imaged by single-quantum dot tracking. *Traffic*. 10 : 691—712.
- Poston Ch.N., Duong E., Cao Y., Bazemore-Walker C. R. 2011. Proteomic analysis of lipid raft-enriched membranes isolated from internal organelles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 415 : 355—360.
- Pralle A., Keller P., Florin E. L., Simons K., Hörber J. K. 2000. Sphingolipid-cholesterol rafts diffuse as small entities in the plasma membrane of mammalian cells. *J. Cell Biol.* 148 : 997—1008.
- Prinetti A., Chigorno V., Tettamanti G., Sonnino S. 2000. Sphingolipid-enriched membrane domains from rat cerebellar granule cells differentiated in culture: a compositional study. *J. Biol. Chem.* 275 : 11 658—11 665.
- Quinn P. J. 2010. A lipid matrix model of membrane raft structure. *Progr. Lipid Res.* 49 : 390—406.
- Rajendran L., Beckmann J., Magenau A., Boneberg E.-M., Gaus K., Viola A., Giebel B., Illges H. 2009. Flotillins are involved in the polarization of primitive and mature hematopoietic cells. *PLoS ONE*. 4 : e8290.
- Razani B., Woodman S. E., Lisanti M. P. 2002. Caveolae: from cell biology to animal physiology. *Pharmacol. Rev.* 54 : 431—467.
- Resh M. D. 1999. Fatty acylation of proteins: new insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins. *Biochim. biophys. acta*. 1451 : 1—16.
- Rietveld A., Simons K. 1998. The differential miscibility of lipids as the basis for the formation of functional membrane rafts. *Biochim. biophys. acta*. 1376 : 467—479.
- Scherer P. E., Lisanti M. P., Baldini G., Sargiacomo M., Mastick C. C., Lodish H. F. 1994. Induction of caveolin during adipogenesis and association of GLUT4 with caveolin-rich vesicles. *J. Cell Biol.* 127 : 1233—1243.
- Schnitzer J. E., McIntosh D. P., Dvorak A. M., Liu J., Oh P. 1995. Separation of caveolae from associated microdomains of GPI-anchored proteins. *Science*. 269 : 1435—1439.
- Schuck S., Honsho M., Ekroos K., Shevchenko A., Simons K. 2003. Resistance of cell membranes to different detergents. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 5795—5800.
- Schütz G. J., Kada G., Pastushenko V. P., Schindler H. 2000. Properties of lipid microdomains in a muscle cell membrane visualized by single molecule microscopy. *EMBO J.* 19 : 892—901.
- Shaul P. W., Anderson R. G. 1998. Role of plasmalemmal caveolae in signal transduction. *Amer. J. Physiol.* 275 : L843—L851.

- Simionescu N., Simionescu M., Palade G. E.* 1975. Permeability of muscle capillaries to small heme-peptides: evidence for the existence of patent transendothelial channels. *J. Cell Biol.* 64 : 586—607.
- Simons K., Ehehalt R.* 2002. Cholesterol, lipid rafts, and disease. *J. Clin. Invest.* 110 : 597—603.
- Simons K., Ikonen E.* 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature.* 387 : 56—72.
- Simons K., Toomre D.* 2000. Lipid rafts and signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 1 : 31—39.
- Smart E. J., Graf G. A., Mcniven M. A., Sessa W. C., Engelman J. A., Scherer P. E., Okamoto T., Lisanti M. P.* 1999. Caveolins, liquid-ordered domains, and signal transduction. *Mol. Cell. Biol.* 19 : 7289—7304.
- Song K. S., Scherer P. E., Tang Z.-L., Okamoto T., Li S., Chafel M., Chu C., Kohtz D. S., Lisanti M. P.* 1996. Expression of caveolin-3 in skeletal, cardiac, and smooth muscle cells. Caveolin-3 is a component of the sarcolemma and co-fractionates with dystrophin and dystrophin-associated glycoproteins. *J. Biol. Chem.* 271 : 15 160—15 165.
- Sowa G.* 2011. Novel insights into the role of caveolin-2 in cell- and tissue-specific signaling and function. *Biochem. Res. Int.* 809259.
- Sowa G.* 2012. Caveolae, caveolins, cavins, and endothelial cell function: new insights. *Front. Physiol.* 2 : 1—13.
- Štefl M., Šachl R., Humpolíčková J., Cebeauer M., Macháň R., Kolářová M., Johansson L. B., Hof M.* 2012. Dynamics and size of cross-linking-induced lipid nanodomains in model membranes. *Biophys. J.* 102 : 2104—2113.
- Suzuki K. G., Kasai R. S., Hirotsawa K. M., Nemoto Y. L., Ishibashi M., Miwa Y., Fujiwara T. K., Kusumi A.* 2012. Transient GPI-anchored protein homodimers are units for raft organization and function. *Nat. Chem. Biol.* 8 : 774—783.
- Thorn H., Stenkula K. G., Karlsson M., Ortegren U., Nyström F. H., Gustavsson J., Stralfors P.* 2003. Cell surface orifices of caveolae and localization of caveolin to the necks of caveolae in adipocytes. *Mol. Biol. Cell.* 14 : 3967—3976.
- Tresset G.* 2009. The multiple faces of self-assembled lipidic systems. *PMC Biophysics.* 2 : 1—25.
- Van Meer G., Lisman Q.* 2002. Sphingolipid transport: rafts and translocators. *J. Biol. Chem.* 277 : 25 855—25 858.
- Van Meer G., Voelker D. R., Feigenson G. W.* 2008. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 9 : 112—124.
- Wang G., Liu G., Wang X., Sethi S., Ali-Fehmi R., Abrams J., Zheng Z., Zhang K., Ethier S., Yang Z. Q.* 2012. ERLIN2 promotes breast cancer cell survival by modulating endoplasmic reticulum stress pathways. *BMC Cancer.* 12 : 225. doi: 10.1186/1471-2407-12-225.
- Williams T. M., Lisanti M. P.* 2004. The caveolin genes: from cell biology to medicine. *Ann. Med.* 36 : 584—595.
- Yamada E.* 1955. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1 : 445—458.
- Yeichel E., Edidin M.* 1987. Micrometer-scale domains in fibroblast plasma membranes. *J. Cell Biol.* 105 : 755—760.

Поступила 20 IX 2012

COMPARATIVE MORPHOFUNCTIONAL DESCRIPTION OF PLANAR RAFTS AND CAVEOLAE

S. N. Pleskova,¹ E. E. Pudovkina²

¹ Research and Education Center «Physics of Solid State Nanostructures»,
N. I. Lobachevski Nizhny Novgorod State University, and Department of Biotechnology, Physical
and Analytical Chemistry, R. E. Alekseev Nizhny Novgorod State Technical University;

¹ e-mail: pleskova@mail.ru

Recently, redefining of the role of the membrane lipids and the formation of a new look at the morphology, organization and functioning of membranes occurred due to the study of specific membrane clusters — rafts. The present review summarizes the current data concerning the morphology, the biophysical and biochemical properties of rafts, describes the structure, form and basic functional microdomains marking proteins.

Key words: membrane lipids, planar rafts, caveolae.