

РЕТИКУЛОНЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИНАМИКА В КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАНАХ

© К. Н. Морозова,^{1, 2, *} Е. В. Киселева¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090, и

²Кафедра цитологии и генетики Новосибирского государственного университета, Новосибирск, 630090;

* электронный адрес: morozko@bionet.nsc.ru

Ретикулоны являются суперсемейством белков, названным так по причине преимущественной внутриклеточной локализации в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР). Основная функция ретикулонов заключается в придании и поддержании формы ограниченных мембранами внутриклеточных оргanelл (в особенности ЭПР). Настоящий обзор посвящен классификации, структуре и функции ретикулонов. Проведен подробный анализ литературных данных по всему семейству ретикулонов, особый упор сделан на ретикулоны млекопитающих. Представленный обзор суммирует имеющуюся на данный момент информацию о ретикулонах.

Ключевые слова: ретикулоны, эндоплазматический ретикулум, интегральные мембранные белки.

Принятые сокращения: а. о. — аминокислотный остаток, ЭПР — эндоплазматический ретикулум, NSP — нейроэндокрин-специфичный белок, REEP — рецепторные белки-усилители экспрессии (receptor expression enhancing proteins), RHD — домен гомологичности ретикулонов (reticulon homology domain), RTN — ретикулон (белок), *RTN* — ретикулон (ген).

Новое семейство генов, названных ретикулонами, поскольку их продукт локализуется в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР), было идентифицировано и охарактеризовано чуть более 10 лет назад (Oertle, Schwab, 2003; Yang, Strittmatter, 2007). Белки, кодируемые этими генами, также были названы ретикулонами. Было обнаружено, что это мембранно-ассоциированные белки, закоренные в мембраны ЭПР посредством своих С-терминальных концов. Ретикулоны в основном ответственны за поддержание формы тубулярной сети эндоплазматического ретикулума, трафик мембран, ингибирование роста аксонов и апоптоз. У всех ретикулонов есть общая последовательность — RHD-домен (reticulon homology domain), который состоит из парных гидрофобных последовательностей, встраивающихся в виде клина в двухслойные мембраны и вызывающих их искривление. Ретикулоны повсеместно экспрессируются во всех тканях, но при этом каждый член семейства ретикулонов демонстрирует уникальный паттерн экспрессии, предпочтительный для определенной ткани или даже типа клеток. В последнее время накопилось много данных о новых и неожиданных функциях ретикулонов, в том числе их роли в связывании ДНК, аутофагии и воспалительных процессах. Из всего многообразия функций ретикулонов наиболее важным является их участие в нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, наследственная спастическая параплегия и рассеянный склероз.

Гены ретикулонов характеризуются высокой экспрессией в разных тканях и специфическими топологи-

ческими свойствами. Продукт этих генов — белки-ретикулоны — широко распространены в клетках растений, животных и дрожжей, все они имеют С-концевой домен длиной около 200 а. о., включающий в себя 2 длинные гидрофобные последовательности. Общим свойством ретикулонов является их влияние на функции ЭПР во внутриклеточном транспорте, клеточном делении и апоптозе (Oertle, Schwab, 2003). Наряду с общими существуют специфические функции для отдельных белков, проявляющиеся при различных заболеваниях. Например, гиперэкспрессия ретикулона-1 вызывает хроническую болезнь почек, а NogoA (ретикулон-4) может ингибировать рост нейронов, взаимодействуя со специфическими рецепторами на клеточной поверхности (Kempf et al., 2013; Fan et al., 2015).

Эволюция и классификация ретикулонов

Все ретикулоны, по-видимому, возникли в ранней эволюции эукариот. Ретикулоны были определены в геномах *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Danio rerio*, *Xenopus laevis*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces cerevisiae* и многих других эукариот, однако не выявлены в археях и бактериях (Oertle et al., 2003; Voeltz et al., 2006). Ретикулоны встречаются и у низших, и у высших эукариот, от дрожжей до человека. У позвоночных ген и соответствующий ему белок называются ретикулонами и обозначаются символом *RTN* и RTN соответственно, в то время как у

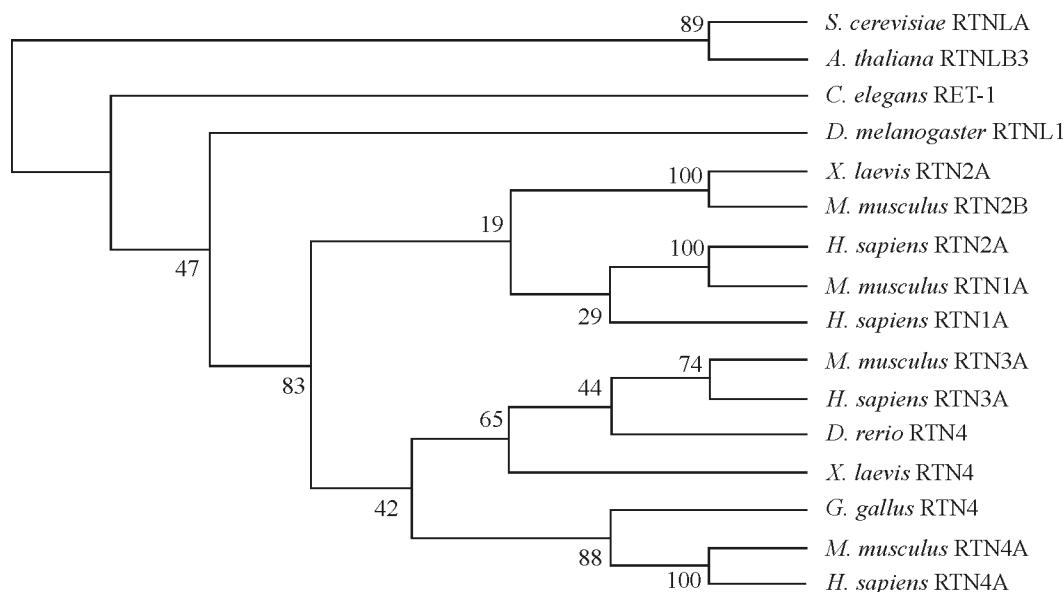


Рис. 1. Филогения домена гомологии ретикулонов (RHD).

Справа перечислены различные эукариотические организмы от дрожжей до человека; филогенетическое дерево показывает эволюцию домена RHD ретикулонов и ретикулоноподобных белков (Yang, Strittmatter, 2007, публикуется с разрешения автора и издательства Springer-Nature).

беспозвоночных многоклеточных они обозначаются как ретикулоноподобные *RTNL* (RTN-like) (Oertle et al., 2003). У многих видов присутствуют множественные гены *RTN*, по-видимому, вследствие дупликации от одного общего предка (Bandtlow et al., 2004). Четыре гена ретикулонов млекопитающих (*RTN1-4*) дают по меньшей мере 11 вариантов сплайсинга. Ген *RTN1* кодирует два основных белка, называемых RTN1A и RTN1C, и в меньшем количестве третий белок — RTN1B. Ген *RTN2* производит три белка, называемые RTN2A, RTN2B и RTN2C, а *RTN3* кодирует белки RTN3A и RTN3B. Наконец, *RTN4* кодирует 3 основные изоформы белков — RTN4A, RTN4B и RTN4C, также известные как NogoA, NogoB и NogoC (Roebroek et al., 1993, 1998; Van de Velde et al., 1994; Geisler et al., 1998; Moreira et al., 1999; Yang et al., 2000). Почти все гены ретикулонов содержат многочисленные интроны и экзоны, большинство из которых альтернативно сплайсируется и дает множественные изоформы белков (Oertle et al., 2003). В ходе эволюции интроны удалялись и вновь появлялись, что привело к большому разнообразию семейства ретикулонов. Белки семейства ретикулонов присутствуют во всех исследованных эукариотических организмах и варьируют в размере от 200 до 1200 аминокислот. Все они содержат консервативный RHD-домен (reticulon homology domain — ретикулоноподобный домен) в С-концевом участке, состоящий из двух гидрофобных районов, обрамляющих гидрофильную петлю. Филогения RHD домена представлена на рис. 1.

У млекопитающих насчитывается 4 гена ретикулонов (*RTN1-4*), у дрожжей — 2 (*RTN1* и *RTN2*), у арабидопсиса и риса — 21 и 17 соответственно (Oertle et al., 2003). Присутствие ретикулонов исключительно в эукариотических организмах, их отсутствие у архей и бактерий, а также их тесная связь с ЭПР говорят о том, что они коэволюционировали параллельно с эндоплазматической системой эукариот. Ретикулоны млекопитающих RTN1, RTN2, RTN3 и RTN4 проявляют различную степень идентичности. Последовательность RHD-доменов ретикулонов RTN1, 3 и 4 идентична в среднем на 73 %, тогда как аминокислотная

последовательность RTN2 совпадает с RTN4 человека только на 52 %. Идентичность аминокислотной последовательности между RHD-доменами *C. elegans* и *S. cerevisiae* снижается до 15—50 %. В отличие от высококонсервативного С-концевого RHD N-концевые районы ретикулонов вообще не демонстрируют сходства в последовательности аминокислот, даже среди паралогов внутри одного и того же вида (GrandPré et al., 2000). Кроме того, характер экспрессии различных ретикулонов и их сплайсированных изоформ может изменяться даже в одном и том же организме, например у крыс (Hunt et al., 2003). Это расхождение в последовательности и экспрессии согласуется с современными представлениями об эволюции видов и специфичной роли ретикулонов в клетках разных тканей (Di Scala et al., 2005). Исследования генетических нокаутов разных районов и изоформ RTN4 позволили предположить, что его N-концевой домен может вносить вклад в ингибирование регенерации нерва после различных повреждений (Di Scala et al., 2005). Таким образом, дивергентные N-концевые домены ретикулона, по-видимому, выполняют видо- и тканеспецифические роли, тогда как консервативный RHD отвечает за более общие клеточные функции. Особенно четко такая тенденция просматривается в семействе ретикулонов млекопитающих, у которых выявлена самая длинная изоформа ретикулона-4 (GrandPré et al., 2000; Oertle et al., 2003; Hu et al., 2005; Wang et al., 2006). Интересно отметить, что RTN4A отсутствует в клетках рыб, представителей класса животных, характеризующихся повышенной способностью их центральной нервной системы к регенерации после повреждения (Diekmann et al., 2005).

Структурная организация и топология ретикулонов

RHD-домен гомологичности ретикулонов в. Схема строения ретикулонов млекопитающих представлена на рис. 2. N-конец белков достаточно вариаб-

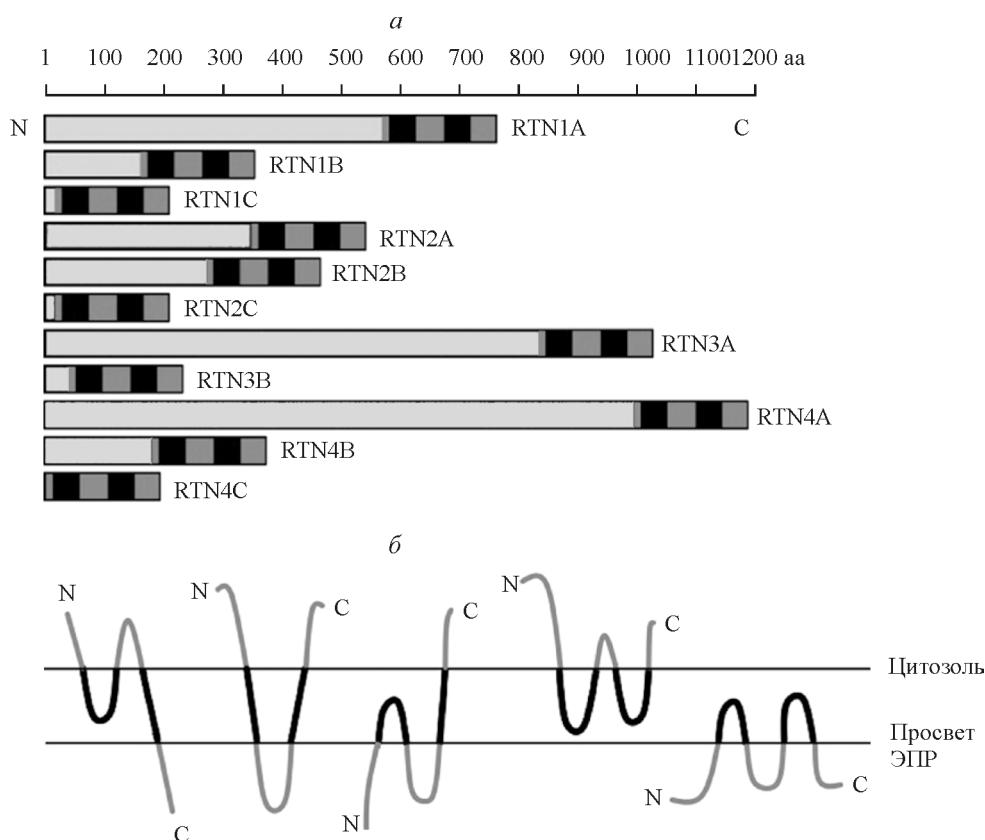


Рис. 2. Классификация и топология ретикулонов млекопитающих.

a — схема организации ретикулонов. Масштабная линейка соответствует длине аминокислотной последовательности каждого ретикулона. Домен гомологичности ретикулонов (RHD) расположен *справа* (обозначен чередующимися *серыми* и *черными квадратами*, где *черные квадраты* — гидрофобные районы). N-концевые районы разных изоформ ретикулонов различаются по длине и обозначены *светло-серым*. *б* — схема, иллюстрирующая возможные варианты топологии ретикулонов в мембране. Согласно биохимическим и биоинформатическим данным, ретикулоны могут быть по-разному ориентированы внутри липидного бислоя (Chiurchiu et al., 2014, публикуется с разрешения автора и издательства Springer).

лен по длине и составу, в то время как C-конец всех ретикулонов консервативен и содержит RHD-домен — последовательность из 150—200 а. о. Ключевой особенностью домена RHD является наличие двух необычайно длинных заякоренных в мембрану гидрофобных участков, каждый длиной 30—36 аминокислот, разделенных гидрофильной петлей — последовательностью из 66 аминокислот (известной как петля Nogo66), за которыми следует короткий C-терминальный хвост длиной приблизительно 50 аминокислот (рис. 2, *a*) (Van de Velde et al., 1994; Oertle, Schwab, 2003; Yang, Strittmatter 2007). Первый гидрофобный участок RHD-домена наименее консервативен, второй, напротив, более консервативен (Yan et al., 2006).

Хотя в процессе эволюции точное соответствие аминокислотной последовательности было утрачено, общая структура RHD имеет сходный характер от растений до дрожжей и вплоть до человека. Это свидетельствует о том, что трехмерная структура белка имеет большее значение для функции RHD, чем его отдельные последовательности. Предполагается, что наличие консервативного RHD-домена определяет общность функций различных ретикулонов, их внутриклеточной локализации и взаимодействия с другими белками (Oertle, Schwab, 2003).

Гидрофобные участки RHD на 10—15 аминокислот длиннее обычных трансмембранных доменов, отсюда возникает вопрос: имеет ли избыточная длина этих участ-

ков значение для функции ретикулонов? Дополнительно к длинным последовательностям этих гидрофобных областей у ретикулонов отсутствует канонический N-концевой сигнал локализации на ЭПР. На основании этих данных было высказано предположение о том, что именно структурная конформация и топология RHD позволяет ретикулонам закрепляться в мембранах ЭПР (Van de Velde et al., 1994; Oertle, Schwab, 2003; Yang, Strittmatter, 2007).

Эта гипотеза привела к заключению о том, что гидрофобные домены могут образовывать петли-шпильки в наружном липидном слое мембраны, которые и отвечают за искривление мембран (Oertle, Schwab, 2003). Однако топология этих гидрофобных районов в мембранах до сих пор определена лишь частично. Возможны и другие конформации: согласно прогнозам анализа *in silico*, ретикулоны могут схлопываться (*flip-flap*) внутри липидного бислоя из-за присутствия заряженных остатков в двух гидрофобных доменах (рис. 2, *б*). Эти домены действительно достаточно длинные, чтобы образовывать петли в липидном бислое, что может дать начало различным альтернативным ориентациям ретикулонов (Oertle et al., 2003; Voeltz et al., 2006; He et al. 2007; Sparkes et al., 2010). В то же время существует ряд доказательств того, что мембранная топология RHD может находиться под влиянием аминокислотных последовательностей в гидрофильной петле и в N-концевом домене (He et al., 2007).

Однако эта гипотеза требует дальнейших биохимических исследований для определения фактической топологии ретикулонов и влияющих на нее факторов.

N-концевой домен ретикулонов. В отличие от RHD, N-концевые участки ретикулонов не являются консервативными и демонстрируют значительные различия по длине и последовательности даже в пределах изоформ одного ретикулона (Oertle, Schwab, 2003; Yan, Strittmatter, 2007). На рис. 2, *a* можно видеть, насколько различается по длине N-конец различных ретикулонов. Если у RTN1A он достигает в длину почти 600 а. о., а у RTN3A и RTN4AB — 800 и 1000 а. о. соответственно, то у RTN1C, RTN 2C и RTN4C его длина всего около 10 а. о. (рис. 2, *a*). В некоторых ретикулонах, таких как RTN1C, RTN2C и RTN4C, N-концевые последовательности очень короткие, а основная часть белков состоит из RHD. В других белках, например RTN1A/B, RTN2A/B, RTN3A и RTN4A/B, длина N-концевых участков намного больше, что, вероятно, и обеспечивает их специфические биологические функции.

В N-концевых участках до сих пор не было идентифицировано никаких специфичных распознаваемых белковых доменов. Тем не менее показано, что N-конец ретикулонов RTN4A и RTN4B богат пролином и содержит большие неструктурированные районы (Li, Song, 2007). Кроме того, N-концы всех изоформ RTN4 не имеют специфической сигнальной последовательности для транслокации ЭПР, учитывая их присутствие как в ЭПР, так и на поверхности клетки. Наличие таких неструктурированных N-концевых доменов у ретикулонов RTN4A/B позволяет им образовывать мультибелковые структуры и выполнять альтернативные функции. N-конец ретикулонов опосредует взаимодействие с другими функциональными партнерами и может способствовать облегчению связывания Nogo66 с его рецептором (Hu et al., 2005). Действительно, фосфорилирование N-конца RTN4B циклинзависимыми киназами 1 и 2 делает белок чувствительным к расщеплению каспазой 7 (Schweigreiter et al., 2007).

Третичная структура ретикулонов. Структура петли RHD RTN4 человека, известная как Nogo66, была недавно исследована методом ядерного магнитного резонанса. Nogo66 растворим в чистой воде и состоит из трех альфа-спиралей — двух коротких, обрамляющих одну длинную, растянувшихся на 6—15, 21—40 и 45—53 а. о., далее следует неструктурированный остаток длиной 55—60 а. о. (Zander et al., 2007). Петля Nogo66 вовлечена в несколько RTN4-специфичных сигнальных каскадов, включая взаимодействие с Nogo-рецептором (NogoR), вызывающее ингибирование роста нейронов (Fournier et al., 2001), и с молекулой клеточной адгезии Caspr (контактинсвязанный белок) (Nie et al., 2003). У человека Nogo66-последовательность ретикулонов RTN1 и RTN3 идентична петле Nogo66-ретикулона RTN4 на 71 и 63 % соответственно. У мышей соответствие ретикулонов RTN1 и RTN3 человеческому RTN4 составляет 67 и 59 % соответственно.

Как было упомянуто выше, N-концевые области различных ретикулонов существенно варьируют по аминокислотным последовательностям. N-концевые участки человеческих изоформ RTN4, вероятно, высоко неструктурированы даже при физиологических условиях. Анализ *in silico* и измерения человеческих изоформ RTN4A и RTN4B методом ядерного магнитного резонанса выявили высокую степень дезорганизации и присутствие только

короткой альфа-спирали и бета-слоя, существование которых к тому же ограничено во времени (Li, Song, 2007). Недавние исследования показали, что неструктурированные белки (IUPs — *intrinsically unstructured proteins*) с большей вероятностью формируют мультибелковые комплексы, чем белки со стабильной третичной структурой, способны эффективнее выполнять альтернативные функции и могут погибать сами на себя, связываясь со своими партнерами (Dyson, Wright, 2005; Li, Song, 2007). Было показано, что до 33 % эукариотических белков содержат длинные неупорядоченные районы, в то время как у архей таких белков всего 2 % (Li, Song, 2007). Характеристика RTN4 как неструктурированного, неупорядоченного белка может объяснить его участие одновременно во многих физиологических процессах (см. далее).

Топология ретикулонов. Ретикулоны являются интегральными мембранными белками, т. е. встроены в клеточные мембраны. Петлевой участок ретикулонов обнаруживается как на поверхности клеток, так и внутриклеточно, на основании чего возникло предположение о том, что гидрофобные участки RHD могут либо пронизывать мембраны ЭПР и плазматическую мембрану полностью, либо заворачиваться и замыкаться на себя, формируя шпильку (рис 2, *б*). Антитела против N-концевого домена RTN4, связывающиеся с поверхностью олигодендроцитов цыпленка в эксплантах спинного мозга (Grand-Pré et al., 2000) и культивированных олигодендроцитов, специфически взаимодействуют как с N-концевыми домен-специфическими антителами, так и с антителами к 66-аминокислотной петле RTN4 (Oertle et al., 2003). Эти данные свидетельствуют о том, что N-конец и петля длиной 66 аминокислот простираются во внутриклеточное пространство, и, таким образом, первый гидрофобный район RHD должен загнуться сам на себя в мембране. Однако другие данные позволяют предполагать, что N-терминальная область является внутриклеточной. Антитела к 66-аминокислотной последовательности петли RTN4 выявляют небольшие количества этого эпитопа на поверхности живых клеток африканской зеленой мартышки линии COS-7 (GrandPré et al., 2000). Более поздние данные позволили предложить модель, согласно которой большая часть N-концевой области и 66-аминокислотной петли являются цитоплазматическими. Например, в COS-клетках, обработанных малеимидом и полиэтиленгликолем, цистеины в N-концевой области и петлевых районах ретикулона RTN4 модифицировались данным реагентом после разрушения детергентом плазматической мембраны, но не мембраны ЭПР (Voeltz et al., 2006). При этом цистеины в C-концевом участке изменялись только частично. Получены доказательства того, что ретикулоны имеют специфичную топологию в различных типах клетки: если в клетках COS-7 мартышки N-концевой участок ретикулона был обнаружен только в цитоплазме, то в олигодендроцитах N-конец встречается и на поверхности, и в цитоплазме. Совокупность описанных результатов позволяет предполагать, что ретикулоны млекопитающих могут иметь различную топологию в ЭПР и в плазматической мембране. Другим примером белка с различной мембранной топологией служит прион (PrP). Суперэкспрессия определенной трансмембранной формы приона, CtmPrP, вызывает нейродегенеративную болезнь, отличную от той, что вызвана естественным патогенным прионом PrP^{Sc} (Stewart et al., 2005). Как и в примере с прионами, в случае ретикулонов разнообразие

конформаций, вероятно, позволяет им выполнять различные функции в разных типах клеток.

Локализация ретикулонов. Первый известный белок семейства ретикулонов был идентифицирован в нервной ткани и впоследствии стал использоваться в качестве антигена, специфического для нейроэндокринных клеток (Roebroeck et al., 1993). Этот так называемый нейроэндокрин-специфичный белок (NSP) был позже переименован в ретикулон-1, когда той же группой исследователей с использованием иммуногистохимических и биохимических методов была обнаружена его связь с ЭПР в клетках COS-1 (Van de Velde et al., 1994). Сами ретикулоны не содержат последовательности, обеспечивающей их локализацию на ЭПР, однако единичного RHD гидрофобного района достаточно для слияния GFP белка RTN с ЭПР, а делеция RHD нарушает связь белка с ЭПР (Iwahashi et al., 2007).

Присутствие ретикулонов во всех без исключения эукариотических организмах и их повсеместная экспрессия во всех тканях позволяют предполагать их некую общую роль в функционировании организма. В то же время каждый отдельный ретикулон может иметь паттерн экспрессии, специфичный для тканей и клеток разных типов (Oertle, Schwab, 2003). Кроме того, многие типы клеток экспрессируют более одного ретикулона, и часть этих белков может выполнять дополнительные специфические функции, помимо тех, что связаны с ЭПР.

Функции ретикулонов

Функции ретикулонов достаточно разнообразны. Весь пул работ, посвященных ретикулонам, можно разделить на три блока: ЭПР-связанная роль ретикулонов, ингибирование роста аксонов и роль в нейродегенеративных заболеваниях. На рис. 3 указаны возможные внутриклеточные функции ретикулонов и белки, взаимодействие с которыми обеспечивает выполнение этих функций. Среди них можно выделить общие, присущие всем членам семейства, и индивидуальные функции, проявляющиеся у отдельных ретикулонов. К общим функциям ретикулонов, связанных с ЭПР, относятся формирование и слияние мембранных пузырьков, сборка ядерной оболочки, мембранный трафик и апоптоз.

Морфогенез ЭПР. Крупным прорывом в понимании функции ретикулонов стала идентификация членов этого семейства в качестве ключевых белков, участвующих в формировании и формообразовании ЭПР. Эта роль подробно обсуждается в ряде обзорных статей (Voeltz et al., 2006; Shibata et al., 2009; Park, Blackstone, 2010; Hu et al., 2011). Путем формирования клиновидных вставок они вызывают спонтанную кривизну мембран и обеспечивают предпочтительное накопление ретикулонов в трубчатых фракциях ЭПР, а также в участках слияния пузырьков ЭПР. Вторым важным свойством ретикулонов является их способность образовывать крупные комплексы за счет взаимодействия между шпильками RHD-домена, в результате чего формируются мощные агрегаты, меняющие форму ЭПР. Показано, что ретикулоны взаимодействуют с белками семейства REEP (receptor expression enhancing proteins) (Voeltz et al., 2006). И REEP, и ретикулоны локализуются на сильно искривленных участках трубочек ЭПР, и у многих видов их делеция вызывает дефекты формирования трубчатого ЭПР в клетке. И наоборот, их избыточная экспрессия стимулирует тубуляцию

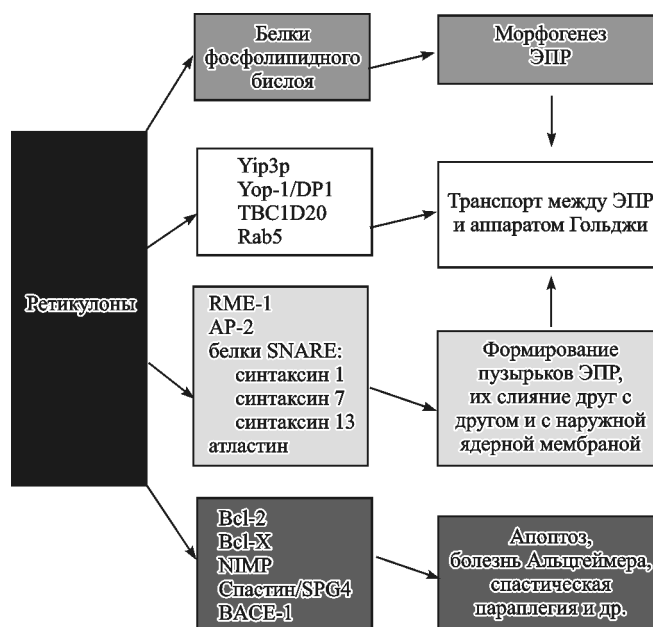


Рис. 3. Участие ретикулонов во внутриклеточных процессах и в патогенезе нейродегенеративных заболеваний человека.

На схеме представлены белки, с которыми взаимодействуют ретикулоны в клетках, и функции ретикулонов, выполнение которых опосредуется этим взаимодействием. Некоторые классы белков могут частично перекрываться по своим функциям в клетке (Yang, Strittmatter, 2007, публикуется с разрешения автора и издательства Springer-Nature).

гладкого ЭПР (Voeltz et al., 2006; Sparkes et al., 2010; O'Sullivan et al., 2012). Кроме того, эксперименты *in vitro* показали, что присутствия ретикулона (например, RTN1) или белка семейства REEP (например, Yop1p) достаточно, чтобы придать трубчатую форму протеолипосомам (Hu et al., 2008). Точно так же, как и ретикулоны, REEP-белки имеют консервативный мембранный домен с двойной шпилькой, что имеет решающее значение для придания способности формировать трубчатые формы ЭПР (Voeltz et al., 2006; Hu et al., 2008; Zurek et al., 2011). Эти наблюдения привели к модели формирования трубчатой фракции ЭПР, в которой REEP и ретикулоны действуют совместно, вызывая стабилизацию искривления мембран гидрофобными клиноподобными шпильками. В этом процессе шпилька, встроившаяся в мембранный домен, вытесняет липиды из наружного слоя сильнее, чем из внутреннего (Hu et al., 2011). При этом олигомеризованные ретикулоны и REEP выступают в качестве скелета, формирующего цилиндрическую структуру изогнутой мембраны, в результате чего образуется трубочка (Hu et al., 2008; Shnyrova et al., 2008; Blackstone et al., 2011). Представленная на рис. 4 модель демонстрирует формирование мембранных трубочек с использованием интегрированных в мембрану белков. Как показано на рис. 4, трансмембранные сегменты ретикулонов могут принимать гидрофобные конформации, напоминающие шпильку, что обеспечивает их проникновение внутрь мембраны.

Встраивание ретикулонов в липидный слой индуцирует как положительную, так и отрицательную кривизну мембран, формируя изгиб мембраны ЭПР, а затем стабилизируют мембрану образующихся трубочек ЭПР (рис. 4, а, б). Ретикулоны вместе с белками REEP, стастином и атластином образуют крупные морфогенные комплексы,

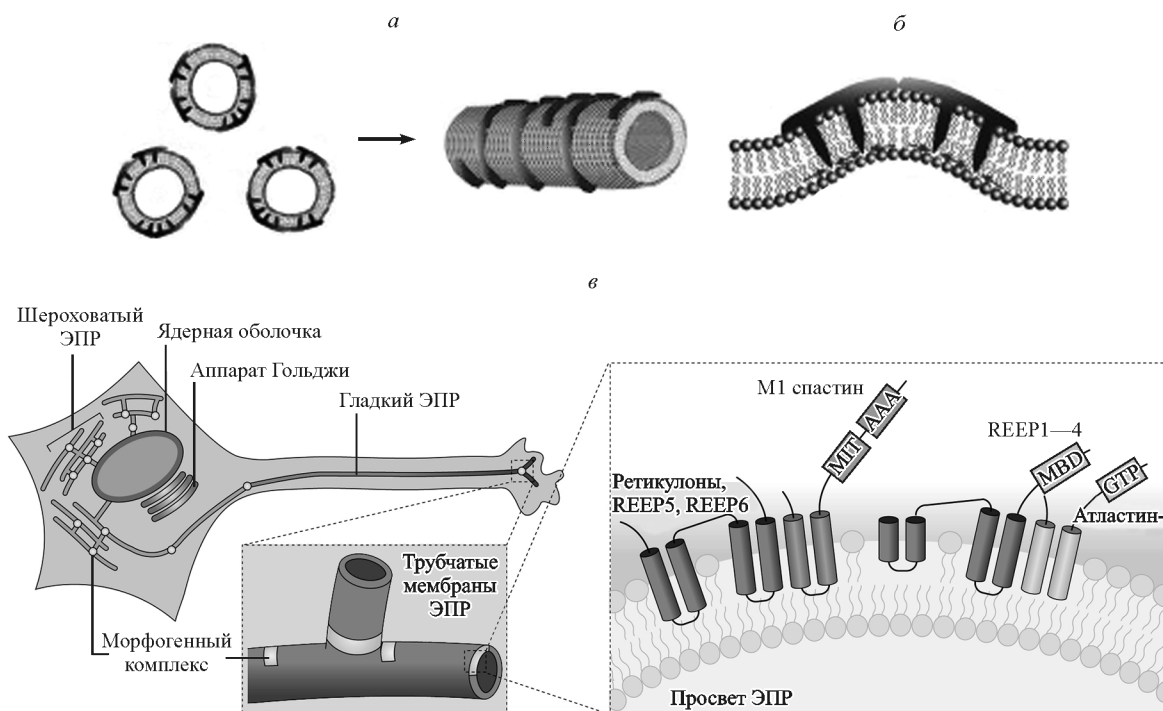


Рис. 4. Формирование мембранных трубочек с использованием интегрированных в мембрану белков.

a — специализированные интегрированные в мембрану белки ЭПР (ретикулоны и Yop1 — отмечены темным цветом) продуцируют мембранные трубочки из небольших протеолипидных пузырьков, катализируя слияние пузырьков и их самосборку в мембраны трубчатой формы. *б* — ретикулоны в виде шпильковидных гидрофобных вставок могут индуцировать как положительную кривизну в контактирующем монослое, так и отрицательную кривизну в дистальном монослое мембран (Shnyrova et al., 2008, публикуется с разрешения авторов). *в* — комплекс спастин—атластин—REEP—ретикулон в составе мембран ЭПР (Blackstone et al., 2011, публикуется с разрешения издательства Nature Publishing Group на размещении иллюстрации). Усиливающие экспрессию рецепторные белки (REEP, Yop1 у дрожжей) и ретикулоны образуют крупные олигомеры (на схеме — морфогенные комплексы), чтобы сформировать трубчатую сеть ЭПР. Белки атластин (Seu1p у дрожжей) взаимодействуют с REEP и ретикулонами (выделенный пунктиром увеличенный фрагмент), в большом количестве эти белки представлены на «перекрестках» мембран. Морфогенный комплекс представлен заякоренными в липидный бислой белками, участвующими в формировании кривизны трубочек ЭПР, а также опосредующими слияние трубочек ЭПР и их взаимодействие с микротрубочками. AAA — АТФазный домен, связанный с различной клеточной активностью, GTP — ГТФазный домен атластина, MIT — взаимодействующие с микротрубочками белковые домены, MBD — микротрубочко-связывающий домен, REEP — усиливающие экспрессию рецепторные белки.

которые заякориваются в липидный бислой ЭПР и обеспечивают морфогенез трубочек ЭПР (рис. 4, *в*) (Connell et al., 2009; Hu et al., 2009; Moss et al., 2011; Liu et al., 2012; Lumb et al., 2012). Этот морфогенный комплекс также является медиатором взаимодействия трубочек ЭПР с микротрубочками и их слияния. Посредством схожего механизма та же группа белков вовлечена в формирование высоко изогнутых краев широких пластов ЭПР (Shibata et al., 2010). Экспрессия дефективного по АТФазе спастина приводит к обширной тубуляции ЭПР, подчеркивая его роль в качестве белка, разъединяющего микротрубочки во время формирования ЭПР (Connell et al., 2009). Оба белка, атластин и спастин, обладают длинными гидрофобными доменами, которые, как предполагается, действуют в качестве шпильки-клина, и оба взаимодействуют с ретикулонами и REEP, а также друг с другом (Sanderson et al., 2006; Park et al., 2010; Montenegro et al., 2012).

Опосредованное антителами ингибирование RTN4A в клетках млекопитающих предотвращает ГТФ-индуцированное формирование удлиненных мембранных трубочек *in vitro*. Нокаут ретикулоноподобного белка RET-1 препятствует образованию ЭПР во время митоза у нематоды *C. elegans* (Audhya et al., 2007).

Основным фактором, контролирующим форму ЭПР, является необходимость максимального увеличения площади поверхности мембран ЭПР по отношению к его

объему в высоко переполненном цитоплазматическом пространстве. В 2014 г. была представлена модель функциональной роли ретикулонов в формировании ЭПР (рис. 5) (Sackman, 2014). Было показано, что трансмембранный домен, близкий к N-концу, формирует трансмембранную шпильку, в то время как ориентация домена, близкого к C-концу, пока неясна (Voeltz et al., 2006). За счет двух шпилек ретикулоны могут связывать пузырьки и трубочки ЭПР, как показано Зурек и соавторами (Zurek et al., 2011), либо механически стабилизировать стыки трубчатого отдела ЭПР, как показано на рис. 5. При этом ретикулоны равномерно распределены вдоль трубочки вместе с белком Sec 61. Sec 61 представляет собой пороформирующий белок, который обеспечивает транслокацию вновь сформированных белков и используется в качестве селективного маркера ЭПР. Поскольку Sec61 не индуцирует образование трубочек в одиночку, индуцированная кривизна четко обусловлена действием ретикулонов (Voeltz, 2006; Kiseleva et al., 2007). Трансмембранный домен человеческого ретикулона-4 может образовывать альфа-спиральную шпильку с плечом длиной 1.6 нм, что примерно на 0.2 нм длиннее гидрофобного монослоя, состоящего из DPPC (фосфолипид дипальмитоил-фосфатидилхолина, содержащего 16 CH₂-групп). Мембрана ЭПР содержит 23 % DPPC и 40 % ненасыщенных липидов. Ее гидрофобная толщина может, таким образом, быть даже меньше. Проблема такого гидрофобного несоответствия

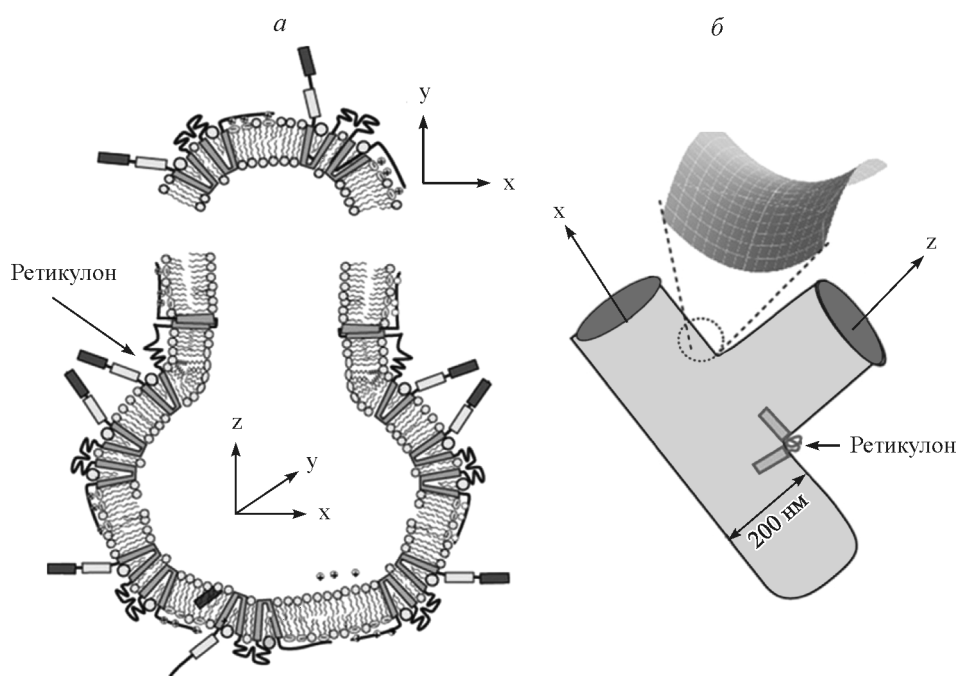


Рис. 5. Модель опосредованной ретикулонами стабилизации мест соединения двух трубочек с различной ориентацией.

a — участие ретикулонов в формировании изгиба мембраны ЭПР; благодаря длинной гидрофильной связи между двумя шпильками один из участков ретикулона может проникать в мембрану вертикально ориентированной трубочки, а другой — в мембрану горизонтально ориентированной трубочки, *б* — схематическое изображение стабилизации точки соединения мембранных трубочек с помощью ретикулонов (Sackmann, 2014, публикуется с разрешения автора).

может быть решена путем наклона двух спиральных плеч по отношению к мембране. Трубочатые соединения могут быть стабилизированы формированием двух шпилек, скрученных под 90° . Клиновидная форма трансмембранного домена ретикулона способствует формированию трубочатой фракции гладкого ЭПР, вызывая высокую спонтанную кривизну мембраны, а также обеспечивает распределение этих белков вдоль трубочек ЭПР (Sackmann, 2014).

Стабилизация мембранных переходов ретикулонами. Главный вопрос состоит в том, как природа решила проблему генерации стабильных соединений между трубочками с радиусом около 50 нм. Здесь возникает сложная топологическая проблема, так как на стыке встречаются мембраны с разной ориентацией изгибов. В 2014 г. была предложена модель опосредованной ретикулонами стабилизации переходов в местах встречи двух трубочек разной ориентации (Sackmann, 2014). Благодаря длинной гидрофильной 66-аминокислотной петле, которой достаточно, чтобы сформировать минимальный радиус кривизны около 10 нм на границе соединения между двумя шпильками, одна из двух шпилек может встраиваться в горизонтально ориентированную трубочку, а другая — в вертикально ориентированную, сама петля при этом формирует случайный виток (рис. 5). На рис. 5, *б* представлена схема стабилизации топологии суппорной точки с помощью ретикулонов (Sackmann, 2014). Экспериментальные доказательства этой модели подтверждаются наблюдением, что избыточная экспрессия ретикулонов (например, *RTN4*) в клетках приводит к образованию расширенных сетей взаимосвязанных трубочек (Sackmann, 2014). Помимо искривления трубочек ЭПР ретикулоны таким же образом связывают мелкие пузырьки с трубочками ЭПР.

Участие ретикулонов в сборке ядерной оболочки. Наши исследования в сотрудничестве с британскими учеными выявили скопление и перемещение ретикулонов в участки слияния пузырьков эндоплазматического ретикулума друг с другом и с наружной мембраной ядерной оболочки в ооцитах амфибий (Kiseleva et al., 2007). Мы впервые продемонстрировали в условиях *in vivo* на ооцитах *Xenopus laevis*, что белок *RTN4A* (*NogoA*) локализуется в участках сплавления компонентов (пузырьков) ЭПР друг с другом, а также в субдоменах ядерной оболочки в участках сплавления компонентов ЭПР с наружной мембраной ядерной оболочки. На электронно-микроскопических фотографиях (рис. 6) показана локализация ретикулона в местах слияния пузырьков ЭПР друг с другом и с ядерной оболочкой. Иммуноцитохимическое выявление ретикулона проводили методами просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии с использованием первичных антител к *RTN4A* и вторичных антител, конъюгированных с частицами золота. Было также установлено, что инкубация формирующихся ядер ооцитов ксенопуса в присутствии анти-*RTN4A* антител блокирует сборку ядерной оболочки (Kiseleva et al., 2007). В экспериментах на *C. elegans* было показано нарушение сборки ядерной оболочки при ингибировании ретикулоноподобного белка *RET-1* (Audhya et al., 2007). Эти данные свидетельствуют о важной роли ретикулонов в сборке новых фрагментов ядерной оболочки.

Мембранный трафик. Несмотря на то что ретикулоны главным образом расположены внутри мембран ЭПР, они также были описаны в составе мембран аппарата Гольджи и плазматической мембраны, где они, по-видимому, также могут быть функционально активными. Ретикулоны участвуют в перемещении материала от ЭПР до комплекса Гольджи и в процессе апоптоза (Voeltz

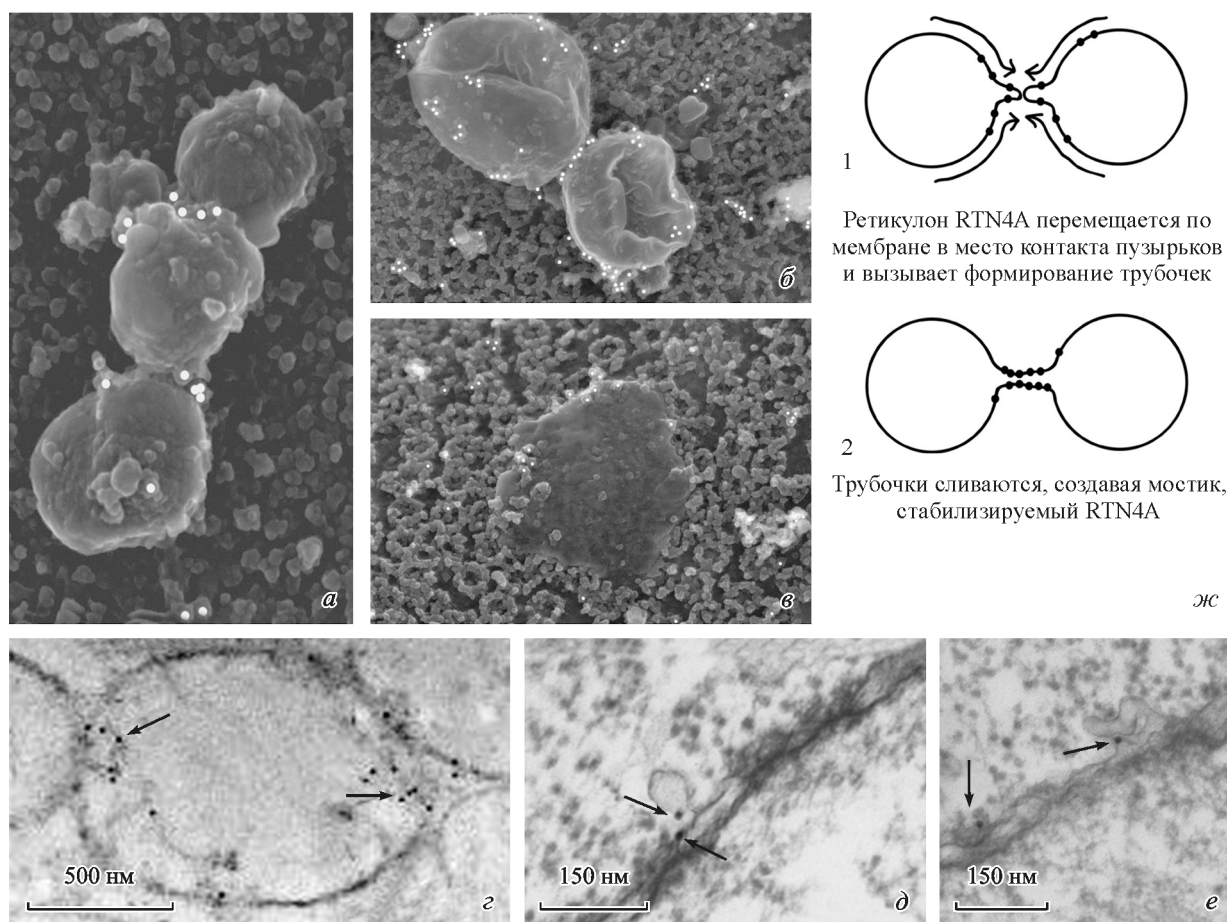


Рис. 6. Локализация ретикулона в местах соединения мембран в ооцитах *Xenopus laevis*.

Электронно-микроскопические фотографии демонстрируют локализацию RTN4A на мембранных структурах в ооцитах *X. laevis* на 3-й стадии развития в местах соединения мембран. Сканирующая (а–в) и просвечивающая (г–е) электронная микроскопия. а — иммуномечение цепочек везикулоподобных структур, соединяющихся в трубочку; круглые белые точки представляют меченный конъюгированными с золотом антителами ретикулона RTN4A. б, в — локализация RTN4A на стыке между более крупными мембранными структурами (б — слияние двух мембранных пузырьков гладкого ЭПР, в — слияние пузырька ЭПР с наружной мембраной ядерной оболочки). г — ретикулон RTN4A в участках слияния пузырьков гладкого ЭПР на срезах ооцитов, иммуномеченных конъюгированными с золотом антителами к RTN4A (локализация антител к RTN4A отмечена стрелками). д, е — локализация ретикулона RTN4A в участках слияния пузырьков гладкого ЭПР с наружной мембраной ядерной оболочки. жс — схема, интерпретирующая представленные фотографии и демонстрирующая локализацию RTN4A; ретикулон RTN4A расположен в местах слияния мембранных везикул, он индуцирует изгиб и слияние мембран, вызывая образование трубочек и поддерживая сформированные трубочки.

et al., 2006). Некоторые исследования показывают, что ретикулоны могут быть вовлечены в секреторный путь различных метаболитов. Например, ретикулон RTN1C коиммунопреципитирует с различными SNARE-белками, вовлеченными в регулируемую секрецию, а эктопическая экспрессия фрагмента RTN1C в клетках PC12 приводит к увеличению выброса гормона роста (Steiner et al., 2004). Точно так же RTN2B является положительным регулятором доставки нейронного транспортера глутамата EAAC1 от ЭПР к поверхности клетки с помощью механизма, облегчающего выход транспортера из ЭПР (Liu et al., 2008). Ретикулоноподобный белок RET-1 *C. elegans* взаимодействует с белком RME-1, регулятором эндоцитозной переработки (Iwahashi et al., 2002). У дрожжей изоформы RTN1 млекопитающих RTN1A и RTN1B взаимодействуют с компонентом эндоцитозно-адаптерного комплекса AP2, а ретикулон RTN1C, напротив, вовлечен в экзоцитоз. Он ассоциируется с калретикулин-отрицательными областями ЭПР и демонстрирует коиммунопреципитацию со SNARE-белками, такими как синтаксин 1, синтаксин 7, синтаксин 13 и VAMP2 (Steiner et al.,

2004). Гиперэкспрессия фрагмента *RTNIC* увеличивает экзоцитоз в клетках PC12. Суммируя вышесказанное, можно заключить, что ретикулоны взаимодействуют с белками, вовлеченными в формирование и слияние везикул, такими как белки SNARE и SNAPs.

RTN3 участвует в ранних фазах секреторного пути; например, его избыточная экспрессия в клетках HeLa служит препятствием для прямого и обратного транспорта между ЭПР и комплексом Гольджи (Wakana et al., 2005). Участие ретикулонов во внутриклеточном транспорте тесно связано с формированием и переработкой мембран пузырьков. У дрожжей RTNL1B формирует комплексы с Yip3p, дрожжевым ортологом Rab-GDI-замещающего фактора млекопитающих (GDF). Малые ГТФазы семейства Rab облегчают транспорт пузырьков между органеллами и регулируются ГДФазами (Geng et al., 2005). При скрининге клеток человека на ГДФазо-активирующие белки (GAP), которые ингибируют функцию Rab, был найден белок TBC1D20, являющийся GAP-белком для Rab1 и RAB2. В том же исследовании было продемонстрировано взаимодействие между

RTN1C и TBC1D20 в двухгибридном скрининге дрожжей, что явилось дальнейшим аргументом в пользу роли ретикулонов как регуляторов Rab-регулируемого внутриклеточного транспорта (Haas et al., 2007).

Апоптоз. В клетках млекопитающих ретикулоны могут также играть роль в процессе апоптоза. Многочисленные доказательства указывают на то, что ретикулоны участвуют в апоптозе, индуцированном стрессом ЭПР (Tagami et al., 2000; Kuang et al., 2006; Di Sano et al., 2007). Стресс ЭПР — это молекулярно-патолофизиологический процесс, лежащий в основе многих сердечно-сосудистых, эндокринных и других заболеваний. Нарушение процессов конформационного созревания белков в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) может индуцировать протеотоксический стресс. Активированные компенсаторные механизмы в ответ на нарушение фолдинга белков в ЭПР включают в себя увеличение экспрессии ферментов, участвующих в образовании дисульфидных связей в белках. Продуктом окисления сульфгидрильных групп белков являются, как известно, активные формы кислорода (АФК). Увеличение активности оксидоредуктазы ER01 может быть одним из механизмов развития окислительного стресса, однако источник АФК при стрессе ЭПР и связь гиперпродукции АФК со стрессом ЭПР все еще остаются предметом дискуссий. Интересно, что гиперэкспрессия *RTN4A/B* индуцирует апоптоз сама по себе путем ингибирования апоптотических ингибиторов Bcl-XL и Bcl-2, в то время как избыточная экспрессия *RTN1C*, *RTN3* или *RTN4B* вызывает апоптоз, опосредованный стрессом ЭПР одновременно с выбросом ионов Ca^{2+} из резервов в ЭПР (Tagami et al., 2000; Kuang et al., 2006; Tufi et al., 2008). Выяснилось, что RTN1C модулирует апоптоз, повышая чувствительность ЭПР к стрессорным воздействиям в клетках нейробластомы (Di Sano et al., 2007). Кроме того, в клетках HeLa RTN3 вызывает активацию каспазы-3 и каспазы-12 одновременно с падением мембранного потенциала митохондрий и высвобождением цитохрома C (Xu et al., 2006). Ретикулон RTN3 также усиливает апоптоз через индукцию экспрессии DR5 в раковых клетках почек человека (Lee et al., 2009). Несколько независимых групп исследователей показали, что RTN3 также увеличивает апоптоз через взаимодействие с Bcl-2 (Wan et al., 2007; Zhu et al., 2007). Совокупность перечисленных данных свидетельствует о том, что ретикулоны могут подавлять рост и развитие опухоли посредством регуляции апоптоза.

Заключение

Семейство ретикулонов представляет огромный интерес. Несмотря на присутствие во всех эукариотических организмах, они были открыты относительно недавно. Более того, оказалось, что эти белки разнообразны, они встречаются в разных типах клеток, где выполняют совершенно отличные друг от друга функции. В отношении семейства ретикулонов еще остаются вопросы, начиная от основных характеристик, таких как мембранная топология и партнеры ретикулонов во внутриклеточном транспорте. Решающая роль этих белков в функционировании ЭПР очевидна, но помимо участия в морфогенезе ЭПР ретикулоны выполняют и другие, весьма разнообразные функции.

Ретикулоны являются замечательным примером того, как один и тот же белок в процессе эволюции способен

приобретать несколько функций. Изначально ретикулоны возникли как семейство нейроэндокринно-специфических белков, функция которых относилась только к топологии их RHD домена, а в настоящее время они признаны в качестве модуляторов ряда других функций, приписываемых их N-концевому домену. Очевидно, что исследования ретикулонов будут продолжаться.

Авторы выражают глубокую благодарность проф. Стефену Стриттметтеру (Prof. Stephen Strittmatter, Yale University School of Medicine, США), д-ру Эвану Рейду (Dr Evan Reid, Cambridge Institute for Medical Research, Великобритания), проф. Джошуа Циммербергу (Prof. Joshua Zimmerberg, NIH, США), проф. Эрику Сакману (Prof. Erich Sackmann, Munchen Technical University, Германия), а также издательствам Springer, Springer-Nature и Nature Publishing Group Nature за разрешение на использование иллюстраций.

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта № 0324-2016-0003.

Список литературы

- Audhya A., Desai A., Oegema K. 2007. A role for Rab5 in structuring the endoplasmic reticulum. *J. Cell Biol.* 178 : 43—56.
- Bandtlow C. E., Dlaska M., Pirker S., Czech T., Baumgartner C., Sperk G. 2004. Increased expression of Nogo-A in hippocampal neurons of patients with temporal lobe epilepsy. *Eur. J. Neurosci.* 20 : 195—206.
- Blackstone C., O’Kane C. J., Reid E. 2011. Hereditary spastic paraplegias: membrane traffic and the motor pathway. *Nat. Rev. Neurosci.* 12 : 31—42.
- Chiurchiù V., Cencioni M. T., Bisicchia E., De Bardi M., Gasperini C., Borsellino G., Centonze D., Battistini L., Maccarrone M. 2013. Distinct modulation of human myeloid and plasmacytoid dendritic cells by anandamide in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 73 : 626—636.
- Chiurchiù V., Maccarrone M., Orlacchio A. 2014. The role of reticulons in neurodegenerative diseases. *Neuromol. Med.* 16 : 3—15.
- Connell J. W., Lindon C., Luzio J. P., Reid E. 2009. Spastin couples microtubule severing to membrane traffic in completion of cytokinesis and secretion. *Traffic.* 10 : 42—56.
- Di Sano F., Fazi B., Tufi R., Nardacci R., Piacentini M. 2007. Reticulon-1C acts as a molecular switch between endoplasmic reticulum stress and genotoxic cell death pathway in human neuroblastoma cells. *J. Neurochem.* 102 : 345—353.
- Diekmann H., Klinger M., Oertle T., Heinz D., Pogoda H. M., Schwab M. E., Stuermer C. A. 2005. Analysis of the reticulon gene family demonstrates the absence of the neurite growth inhibitor Nogo-A in fish. *Mol. Biol. Evol.* 22 : 1635—1648.
- Di Scala F., Dupuis L., Gaiddon C., De Tapia M., Jokic N., Gonzalez de Aguilar J. L., Raul J. S., Ludes B., Loeffler J. P. 2005. Tissue specificity and regulation of the N-terminal diversity of reticulon 3. *Biochem. J.* 385 : 125—134.
- Dyson H. J., Wright P. E. 2005. Intrinsically unstructured proteins and their functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6 : 197—208.
- Fan Y., Xiao W., Li Z., Li X., Chuang P. Y., Jim B., Zhang W., Wei C., Wang N., Jia W., Xiong H., Lee K., He J. C. 2015. RTN1 mediates progression of kidney disease by inducing ER stress. *Nat. Commun.* 6 : 7841.
- Fournier A. E., GrandPré T., Strittmatter S. M. 2001. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature.* 409 : 341—346.
- Geisler J. G., Stubbs L. J., Wasserman W. W., Mucenski M. L. 1998. Molecular cloning of a novel mouse gene with predominant muscle and neural expression. *Mammal Genome.* 9 : 274—282.

- Geng J., Shin M. E., Gilbert P. M., Collins R. N., Burd C. G. 2005. *Saccharomyces cerevisiae* Rab-GDI displacement factor ortholog Yip3p forms distinct complexes with the Ypt1 Rab GTPase and the reticulon Rtn1p. *Euk. Cell.* 4 : 1166—1174.
- GrandPré T., Nakamura F., Vartanian T., Strittmatter S. M. 2000. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a reticulon protein. *Nature.* 403 : 439—444.
- Haas A. K., Yoshimura S., Stephens D. J., Preisinger C., Fuchs E., Barr F. A. 2007. Analysis of GTPase-activating proteins: Rab1 and Rab43 are key Rabs required to maintain a functional Golgi complex in human cells. *J. Cell Sci.* 120 : 2997—3010.
- He W., Shi Q., Hu X., Yan R. 2007. The membrane topology of RTN3 and its effect on binding of RTN3 to BACE1. *J. Biol. Chem.* 282 : 29 144—29 151.
- Hu F., Liu B. P., Budel S., Liao J., Chin J., Fournier A. 2005. Nogo-A interacts with the Nogo-66 receptor through multiple sites to create an isoform-selective subnanomolar agonist. *J. Neurosci.* 25 : 5298—5304.
- Hu J., Prinz W. A., Rapoport T. A. 2011. Weaving the web of ER tubules. *Cell.* 147 : 1226—1231.
- Hu J., Shibata Y., Voss C., Shemesh T., Li Z., Coughlin M. 2008. Membrane proteins of the endoplasmic reticulum induce high-curvature tubules. *Science.* 319 : 1247—1250.
- Hu J., Shibata Y., Zhu P. P., Voss C., Rismanchi N., Prinz W. A. 2009. A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell.* 138 : 549—561.
- Hunt D., Coffin R. S., Prinjha R. K., Campbell G., Anderson P. N. 2003. Nogo-A expression in the intact and injured nervous system. *Mol. Cell Neurosci.* 24 : 1083—1102.
- Iwahashi J., Hamada N., Watanabe H. 2007. Two hydrophobic segments of the RTN1 family determine the ER localization and retention. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355 : 508—512.
- Iwahashi J., Kawasaki I., Kohara Y., Gengyo-Ando K., Mitani S., Ohshima Y., Hamada N., Hara K., Kashiwagi T., Toyoda T. 2002. *Caenorhabditis elegans* reticulon interacts with RME-1 during embryogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293 : 698—704.
- Kempf A., Montani L., Petrinovic M. M., Schroeter A., Weinmann O., Patrignani A., Schwab M. E. 2013. Upregulation of axon guidance molecules in the adult central nervous system of Nogo-A knockout mice restricts neuronal growth and regeneration. *Eur. J. Neurosci.* 38 : 3567—3579.
- Kiseleva E. V., Morozova K. N., Voeltz G. K., Allen T. D., Goldberg M. W. 2007. Reticulon 4a/NogoA locates to regions of high membrane curvature and may have a role in nuclear envelope growth. *J. Struct. Biol.* 160 : 224—235.
- Kuang E., Wan Q., Li X., Xu H., Zou T., Qi Y. 2006. ER stress triggers apoptosis induced by Nogo-B/ASY overexpression. *Exp. Cell Res.* 312 : 1983—1988.
- Lee J. T., Lee T. J., Kim C. H., Kim N. S., Kwon T. K. 2009. Over-expression of Reticulon 3 (RTN3) enhances TRAIL-mediated apoptosis via up-regulation of death receptor 5 (DR5) and down-regulation of c-FLIP. *Cell Res.* 19 : 185—192.
- Li M., Song J. 2007. The N- and C-termini of the human Nogo molecules are intrinsically unstructured: bioinformatics, CD, NMR characterization, and functional implications. *Proteins.* 68 : 100—108.
- Liu T. Y., Bian X., Sun S., Hu X., Klemm R. W., Prinz W. A. 2012. Lipid interaction of the C terminus and association of the transmembrane segments facilitate atlastin-mediated homotypic endoplasmic reticulum fusion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 109 : 2146—2154.
- Liu Y., Vidensky S., Ruggiero A. M., Maier S., Sitte H. H., Rothstein J. D. 2008. Reticulon RTN2B regulates trafficking and function of neuronal glutamate transporter EAAC1. *J. Biol. Chem.* 283 : 6561—6571.
- Lumb J. H., Connell J. W., Allison R., Reid E. 2012. The AAA ATPase spastin links microtubule severing membrane modelling. *Biochim. biophys. acta.* 1823 : 192—197.
- Montenegro G., Rebelo A. P., Connell J., Allison R., Babalini C., D'Aloia M. 2012. Mutations in the ER-shaping protein reticulon 2 cause the axon-degenerative disorder hereditary spastic paraplegia type 12. *J. Clin. Invest.* 122 : 538—544.
- Moreira E. F., Jaworski C. J., Rodriguez I. R. 1999. Cloning of a novel member of the reticulon gene family (RTN3): gene structure and chromosomal localization to 11q13. *Genomics.* 58 : 73—81.
- Moss T. J., Andrezza C., Verma A., Daga A., McNew J. A. 2011. Membrane fusion by the GTPase atlastin requires a conserved C-terminal cytoplasmic tail and dimerization through the middle domain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 108 : 11 133—11 138.
- Nie D. Y., Zhou Z. H., Ang B. T., Teng F. Y., Xu G., Xiang T., Wang C. Y., Zeng L., Takeda Y., Xu T. L. 2003. Nogo-A at CNS paranodes is a ligand of Caspr: possible regulation of K⁽⁺⁾ channel localization. *EMBO J.* 22 : 5666—5678.
- O'Sullivan N. C., Jahn T. R., Reid E., O'Kane C. J. 2012. Reticulon-like-1, the *Drosophila* orthologue of the hereditary spastic paraplegia gene reticulon 2, is required for organization of endoplasmic reticulum and of distal motor axons. *Hum. Mol. Genet.* 21 : 3356—3365.
- Oertle T., Klinger M., Stuermer C. A., Schwab M. E. 2003. A reticular rhapsody: phylogenetic evolution and nomenclature of the RTN/Nogo gene family. *FASEB J.* 17 : 1238—1247.
- Oertle T., Schwab M. E. 2003. Nogo and its pARTNers. *Trends Cell Biol.* 13 : 187—194.
- Park S. H., Blackstone C. 2010. Further assembly required: construction and dynamics of the endoplasmic reticulum network. *EMBO Rep.* 11 : 515—521.
- Park S. H., Zhu P. P., Parker R. L., Blackstone C. 2010. Hereditary spastic paraplegia proteins REEP1, spastin, and atlastin-1 coordinate microtubule interactions with the tubular ER network. *J. Clin. Invest.* 120 : 1097—1110.
- Roebroek A. J., Contreras B., Pauli I. G., Van de Ven W. J. 1998. cDNA cloning, genomic organization, and expression of the human RTN2 gene, a member of a gene family encoding reticulons. *Genomics.* 51 : 98—106.
- Roebroek A. J., van de Velde H. J., van Bokhoven A., Broers J. L., Ramaekers F. C., Van de Ven W. J. 1993. Cloning and expression of alternative transcripts of a novel neuroendocrine-specific gene and identification of its 135-kDa translational product. *J. Biol. Chem.* 268 : 13 439—13 447.
- Sackmann E. 2014. Endoplasmic reticulum shaping by genetic mechanisms and protein-induced spontaneous curvature. *Adv. Colloid Interface Sci.* 208 : 153—160.
- Sanderson C. M., Connell J. W., Edwards T. L., Bright N. A., Duley S., Thompson A. 2006. Spastin and atlastin, two proteins mutated in autosomal-dominant hereditary spastic paraplegia, are binding partners. *Hum. Mol. Genet.* 15 : 307—318.
- Schweigreiter R., Stasyk T., Contarini I., Frauscher S., Oertle T., Klimaschewski L. 2007. Phosphorylation-regulated cleavage of the reticulon protein Nogo-B by caspase-7 at a noncanonical recognition site. *Proteomics.* 7 : 4457—4467.
- Shibata Y., Hu J., Kozlov M. M., Rapoport T. A. 2009. Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles. *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.* 25 : 329—354.
- Shibata Y., Shemesh T., Prinz W. A., Palazzo A. F., Kozlov M. M., Rapoport T. A. 2010. Mechanisms determining the morphology of the peripheral ER. *Cell.* 143 : 774—788.
- Shnyrova A., Frolov V. A., Zimmerberg J. 2008. ER biogenesis: self-assembly of tubular topology by protein hairpins. *Curr. Biol.* 18 : 474—476.
- Sparkes I., Tolley N., Aller I., Osterrieder A., Botchway S., Mueller C. 2010. Five *Arabidopsis* reticulon isoforms share endoplasmic reticulum location, topology, and membrane-shaping properties. *Plant Cell.* 22 : 1333—1343.
- Steiner P., Kulangara K., Sarria J. C., Glauser L., Regazzi R., Hirling H. 2004. Reticulon 1-C/neuroendocrine-specific protein-C interacts with SNARE proteins. *J. Neurochem.* 89 : 569—580.
- Stewart R. S., Piccardo P., Ghetti B., Harris D. A. 2005. Neurodegenerative illness in transgenic mice expressing a transmembrane form of the prion protein. *J. Neurosci.* 25 : 3469—3477.
- Tagami S., Eguchi Y., Kinoshita M., Takeda M., Tsujimoto Y. 2000. A novel protein, RTN-XS, interacts with both Bcl-XL and

Bcl-2 on endoplasmic reticulum and reduces their antiapoptotic activity. *Oncogene*. 19 : 5736—5746.

Tufi R., Panaretakis T., Bianchi K., Criollo A., Fazi B., Di Sano F. 2008. Reduction of endoplasmic reticulum Ca²⁺ levels favors plasma membrane surface exposure of calreticulin. *Cell Death Diff.* 15 : 274—282.

Van de Velde H. J., Roebroek A. J., van Leeuwen F. W., Van de Ven W. J. 1994. Molecular analysis of expression in rat brain of NSP-A, a novel neuroendocrine-specific protein of the endoplasmic reticulum. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 23 : 81—92.

Voeltz G. K., Prinz W. A., Shibata Y., Rist J. M., Rapoport T. A. 2006. A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum. *Cell*. 124 : 573—586.

Wakana Y., Koyama S., Nakajima K., Hatsuzawa K., Nagahama M., Tani K. 2005. Reticulon 3 is involved in membrane trafficking between the endoplasmic reticulum and Golgi. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 334 : 1198—1205.

Wan Q., Kuang E., Dong W., Zhou S., Xu H., Qi Y. 2007. Reticulon 3 mediates Bcl-2 accumulation in mitochondria in response to endoplasmic reticulum stress. *Apoptosis*. 12 : 319—328.

Wang X., Baughman K. W., Basso D. M., Strittmatter S. M. 2006. Delayed Nogo receptor therapy improves recovery from spinal cord contusion. *Ann. Neurol.* 60 : 540—549.

Xu H., Zhou Q., Liu X., Qi Y. P. 2006. Co-involvement of the mitochondria and endoplasmic reticulum in cell death induced by the novel ER-targeted protein. *Cell Mol. Biol. Lett.* 11 : 249—255.

Yan R., Shi Q., Hu X., Zhou X. 2006. Reticulon proteins: emerging players in neurodegenerative diseases. *Cell Mol. Life Sci.* 63 : 877—889.

Yang J., Yu L., Bi A. D., Zhao S. Y. 2000. Assignment of the human reticulon 4 gene (*RTN4*) to chromosome 2p14? 2p13 by radiation hybrid mapping. *Cytogenet. Cell Genet.* 88 : 101—102.

Yang Y. S., Strittmatter S. M. 2007. The reticulons: a family of proteins with diverse functions. *Genome Biol.* 8 : 234.

Zander H., Hettich E., Greiff K., Chatwell L., Skerra A. 2007. Biochemical characterization of the recombinant human Nogo-A ectodomain. *FEBS J.* 274 : 2603—2613.

Zhu L., Xiang R., Dong W., Liu Y., Qi Y. 2007. Antiapoptotic activity of Bcl-2 is enhanced by its interaction with RTN3. *Cell Biol. Int.* 31 : 825—830.

Zurek N., Sparks L., Voeltz G. 2011. Reticulon short hairpin transmembrane domains are used to shape ER tubules. *Traffic*. 12 : 28—41.

Поступила 6 II 2017

RETICULONS: CLASSIFICATION, STRUCTURE AND FUNCTIONAL DYNAMICS IN CELL MEMBRANES

K. N. Morozova,^{1,2,*} E. V. Kiseleva¹

¹ Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of RAS, Novosibirsk, 630090, and

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090;

* e-mail: morozko@bionet.nsc.ru

Reticulons are a proteins superfamily, so-called because of their predominant intracellular localization in the endoplasmic reticulum. Their main function is to maintain a form of the membrane-limited intracellular organelles (especially endoplasmic reticulum). This review is devoted to the classification, structure and function of reticulons. A detailed analysis of the literature data on the entire reticulon family is provided, special emphasis is placed on mammalian reticulons. This review summarizes currently available information on reticulons.

Key words: reticulons, endoplasmic reticulum, integral membrane proteins.