

DOI: 10.31116/tsitol.2018.07.03

## МОДУЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ В ПРИМЕМБРАННЫХ СИГНАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСАХ

© Ю. Н. Орлов

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Ленинградская обл., 188300, и С.-Петербургский политехнический  
университет Петра Великого, кафедра биофизики, Санкт-Петербург, 195251;  
электронный адрес: y.orlov@rambler.ru*

В обзоре рассмотрены молекулярные механизмы, с помощью которых происходит сборка белковых комплексов, управляющих клеточной сигнализацией. Такие комплексы часто локализуются вблизи поверхности клеточных мембран, и поэтому мы будем называть их «примембранными», в том смысле что их образование либо прямо, либо опосредованно зависит от структуры мембранной поверхности. Среди белков, вовлеченных в управление сигнальной трансдукцией, особый интерес представляют амфитропные белки, активность которых зависит от локализации: они выполняют свои функции, если связаны с мембранами, и неактивны, если находятся в цитозоле. Эта особенность указывает на селективный характер взаимодействия амфитропных белков с мембранами. В связи с этим предполагается, что внутриклеточные мембраны обладают уникальным структурным кодом («липидный код»), который может «читаться» амфитропными белками. Исследования, давно ведущиеся в этом направлении, охватывают широкий круг вопросов, связанных не только со структурой мембран или амфитропных белков, но и с метаболизмом липидов в мембранах. И хотя многие вопросы остаются пока невыясненными, считается, что примембранные механизмы, управляющие сигнальной трансдукцией, должны включать в себя два фактора — бислойную липидную асимметрию мембран и липид-специфичные белковые взаимодействия.

Ключевые слова: сигнальная трансдукция, амфитропные белки, липидная асимметрия, фосфоинозитиды, модульные домены, неструктурированные белки

Большинство клеточных функций осуществляется с помощью белковых комплексов, или ансамблей. По разным оценкам в клетках дрожжей функционирует около 800 белковых комплексов, а в клетках человека это число составляет около 3000 (Gavin et al., 2006; Stein et al., 2009). Функции этих комплексов охватывают практически весь спектр клеточной жизнедеятельности, поэтому неудивительно что особенности белковых взаимодействий в них могут носить разный характер. Многие белковые комплексы функционируют вблизи поверхности клеточных мембран и поэтому являются примембранными, в том смысле, что их образование либо прямо, либо опосредованно зависит от структуры мембранной поверхности. Примембранные регуляторные белковые комплексы управляют в клетке сигнальной трансдукцией, везикулярным транспортом и липидным метаболизмом. Мы ограничимся рассмотрением только сигнальных примембранных комплексов, хотя те механизмы, о которых пойдет речь, характерны и для других клеточных процессов (Орлов, 2015).

Любая сигнальная трансдукция начинается с активации рецептора лигандом и заканчивается, как правило, изменением транскрипции генов. На рис. 1 показана типичная функциональная схема, отражающая внутриклеточ-

ные пути сигнальной трансдукции от тирозинкиназного рецептора к ядру, где стрелки соединяют ближайших взаимодействующих партнеров. Так, если рецептор взаимодействует с фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K), то активируется так называемый PI3K/Akt-путь передачи сигнала, если с адаптерным белком GRB2, то это MAPK-каскад (митогенактивируемый протеинкиназный каскад), а если с убиквитинлигазой CBL, то происходит терминация сигнала путем эндоцитоза рецептора (Lemmon, Schlessinger, 2010).

Подобные функциональные схемы обладают тем преимуществом, что отражают многообразие взаимодействующих сигнальных белков, и тем недостатком, что не отвечают на важный вопрос: как происходит выбор конкретного сигнального пути? Чтобы ответить на этот вопрос, необходимо знать структуры взаимодействующих белков и уметь их анализировать. Несмотря на то что исследования в этом направлении ведутся довольно давно, приходится констатировать, что структурных данных пока недостаточно, чтобы прогнозировать пути сигнальной трансдукции в клетке. В то же время понятно, что выбор конкретного пути должен происходить уже на стадии образования примембранного сигнального комплек-

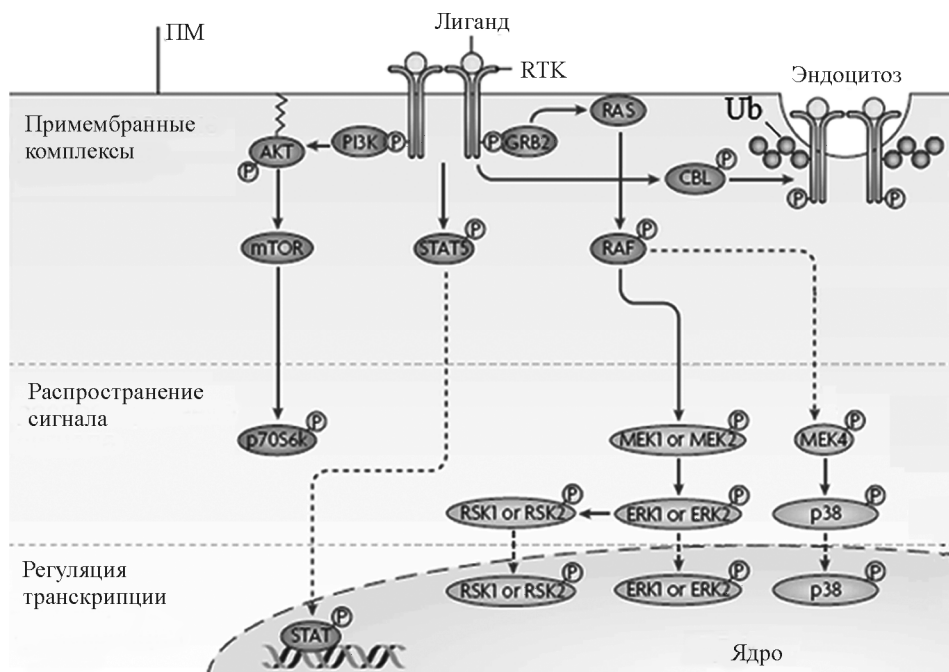


Рис. 1. Сигнальная система тирозинкиназного рецептора.

Стрелки показывают различные пути распространения сигнала в клетке. ПМ — плазматическая мембрана, RTK — тирозинкиназный рецептор, Ub — убиквитин. Объяснения см. в тексте.

са, и, как сегодня считается, молекулярные механизмы, ответственные за это, должны включать в себя два фактора — уникальную структуру мембранной поверхности и липид-специфичные взаимодействия белков с мембранами (Pawson, Nash, 2003; Mayer, 2015).

### Липидная гетерогенность и бислойная асимметрия мембран

Синтез липидов осуществляется в разных местах клетки, и разными путями они доставляются к клеточным компартментам, что обуславливает неравномерное липидное распределение в мембранах органелл. Эндоплазматический ретикулум (ЭР) — это основное место синтеза липидов *de novo*, где синтезируются большинство фосфолипидов и холестерин (Bell et al., 1981). В аппарате Гольджи происходит синтез сфинголипидов и некоторых мажорных фосфолипидов (Henneberry et al., 2002; Futerman, Riezman, 2005). Примерно половина липидов мембран митохондрий синтезируется непосредственно в этой органелле, прежде всего это фосфатидная кислота и ее лизогенные формы, а также фосфатидилглицерин — предшественник митохондриального кардиолипина (Nagle, 2007).

Плазматическая мембрана (ПМ) не является местом синтеза липидов *de novo*. В ней, однако, в результате интенсивного метаболизма продуцируются липидные медиаторы и вторичные мессенджеры посредством реакций фосфорилирования (дефосфорилирования) или отщепления полярной липидной группы (Di Paolo, De Camill, 2006; Hannun, Obeid, 2008).

В клеточных мембранах, за исключением ЭР, липиды распределены асимметрично между монослоями. Для всех органелл характерно высокое содержание фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, инозитолсодержащих

фосфолипидов и фосфатидной кислоты на цитозольной стороне и сфинголипидов и фосфатидилхолина — на противоположной, люминальной стороне (Devaux, Morris, 2004).

Липидная асимметрия природных мембран может поддерживаться за счет структурных и физико-химических особенностей самих липидных молекул (Lopez-Montero et al., 2005; Anglin et al., 2007; Papadopoulos et al., 2007). В то же время имеющиеся данные говорят о том, что в биомембранах липидная асимметрия формируется с помощью интегральных мембранных белков, катализирующих перемещение липидов из одного монослоя в другой (переходы флип-флоп). Это, в частности, следует из наблюдения, что вероятность переходов флип-флоп в природных мембранах значительно выше, чем в искусственных (Rothman, Dawidowicz, 1975; Buton et al., 1996; John et al., 2002). Сегодня можно говорить по крайней мере о трех группах мембранных белков, перемещающих липиды между монослоями, которые принято называть липидными транслоказами: это флипазы (или P4-АТФазы), флопазы (или АВС-переносчики) и скрамблазы (Beyers et al., 1999; Devaux, Morris, 2004).

Флипазы, катализирующие АТР-зависимый транспорт фосфолипидов из люминального в цитозольный монослой клеточных мембран, выделены сегодня в семейство P4-АТФаз, относящееся к суперсемейству АТФаз Р-типа. Идентифицировано 14 представителей этого семейства у млекопитающих (Folmer et al., 2009; Puts, Holthuis, 2009). В поддержании липидной асимметрии участвуют также АВС-переносчики, или АВС-АТФазы. Суперсемейство АВС высших организмов насчитывает 49 представителей. Используя энергию АТР, АВС-переносчики в отличие от флипаз транспортируют липиды в противоположном направлении, т. е. из цитозольного монослоя в люминальный, и называются флопазами (Quazi, Molday, 2011; Locher, 2016).

Цитозольный и люминальный монослои мембраны ЭР в отличие от других органелл имеют симметричный липидный состав (Kol et al., 2004). Синтез липидов происходит на цитозольной поверхности ЭР, и поэтому для симметричности липидного состава необходимо, чтобы половина вновь синтезированных липидов попадала на противоположную сторону. Эту работу выполняют липидные транслоказы, которые называются скрамблазами (от англ. scrambling — перестановка элементов). Показано, что перемещение липидов между монослоями ЭР происходит АТФ-независимым образом (Bever, Williamson, 2010; Contreras et al., 2010).

### «Липидный код» внутриклеточных мембран

Изложенное выше позволяет сказать, что все клеточные органеллы должны иметь уникальную структуру мембранной поверхности, что следует из уникальности их липидного состава, уникального распределения липидов между монослоями и уникального набора мембранных белков (в частности, липидных транслоказ) в каждой органелле. Эта уникальность может выражаться, например, в наличии на поверхности мембран сайтов, обогащенных определенными липидами и присущих только данной органелле («липидный код») (Kutateladze, 2010; Honigsmann et al., 2013). В этом контексте важно остановиться на группе инозитолсодержащих фосфолипидов (фосфоинозитиды). Отметим, что это минорные липиды биомембран и единственная группа липидов, для которой существуют специфичные киназы и фосфатазы, осуществляющие динамичный контроль их содержания в мембранах органелл (Krauss, Naucke, 2007; Sasaki et al., 2009).

Особенностью биогенеза фосфоинозитидов является то, что в ЭР, основном месте синтеза липидов *de novo*, синтезируется только их предшественник — фосфатидилинозитол, а все его семь фосфорилированных форм продуцируются в других клеточных органеллах с участием специфичных киназ и фосфатаз. Так, например, фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PI(4,5)P<sub>2</sub>) продуцируется на цитозольной поверхности плазматической мембраны, фосфатидилинозитол-4-фосфат (PI(4)P) — на цитозольной поверхности Гольджи, фосфатидилинозитол-3-фосфат (PI(3)P) доминирует на поверхности ранних эндосом, а фосфатидилинозитол-3,5-бисфосфат (PI(3,5)P<sub>2</sub>) — на поверхности поздних эндосом и лизосом (Kutateladze, 2010; Shewan et al., 2011). Кроме того, в силу низкого содержания и многозарядности (до -5) все фосфоинозитиды могут формировать на поверхности мембран локальные сайты с сильным электростатическим потенциалом, что дает им конкурентное преимущество при взаимодействии с положительно заряженными белковыми группами (McLaughlin, Murray, 2005).

Таким образом, с учетом неравномерного распределения и динамичного контроля содержания фосфоинозитидов в органеллах, а также их способности формировать на поверхности мембран локальные сайты с сильным электростатическим потенциалом можно сказать, что фосфоинозитиды, вероятно, создают систему «маяков», управляющих клеточными процессами. Если так, то роль механизма управления должна играть адресная (или фосфоинозитид-селективная) ассоциация белков с мембранами органелл. В этой связи особое внимание было ад-

ресовано к так называемым амфитропным белкам. Это регуляторные белки, активность которых зависит от локализации: они активны, если связаны с мембраной, и неактивны, если находятся в цитозоле. Эта особенность амфитропных белков говорит о том, что их взаимодействие с клеточными мембранами должно быть специфичным.

### Фосфоинозитид-специфичные белковые домены

Сегодня в амфитропных белках, регулирующих везикулярный транспорт, сигнализацию и липидный метаболизм, обнаружено более 10 видов глобулярных доменов, специфичных к различным формам фосфоинозитидов. В литературе они обозначаются аббревиатурами PH, PX, FYVE, ANTH, FERM, GOLPH3, PDZ, PTB, ENTH, PROPPIN и некоторыми другими (Itoh, De Camilli, 2006; Kutateladze, 2006; Seet, Hong, 2006; Lemmon, 2008). Названия и аббревиатуры этих доменов, как правило, связаны с белками, в которых они впервые были обнаружены. Например, изученный лучше других PH-домен (Pleckstrin homology domain), или домен плекстриновой гомологии, впервые был обнаружен в плекстрине — регуляторном белке, который является основным субстратом протеинкиназы C тромбоцитов (Mayer et al., 1993). Впоследствии PH-домены были найдены почти в 300 белках человека (Lemmon, 2008).

Канонический PH-домен — это консервативная трехмерная структура, образованная последовательностью из 120 аминокислот. PH-домены разных белков имеют разную специфичность к фосфоинозитидам. Так, около 20 % из них высокоспецифичны к PI(4,5)P<sub>2</sub>, поэтому содержащие их белки имеют тенденцию связываться с плазматической мембраной, где содержание PI(4,5)P<sub>2</sub> много выше, чем в других органеллах (Flesch et al., 2005; He et al., 2008; Knight, Falke, 2009). Аналогичная картина наблюдается и для остальных доменов с той лишь разницей, что они предпочитают связываться с другими формами фосфоинозитидов и, следовательно, с другими органеллами (Gauillier et al., 1998; Hamada et al., 2000; Zimmermann, 2006; Dippold et al., 2009; Kutateladze, 2010).

Необходимо отметить, что все фосфоинозитид-специфичные домены не являются родственными по первичным последовательностям, однако их третичные структуры имеют общую особенность: в пространстве они сворачиваются так, что их N- и C-концы расположены рядом друг с другом. Вследствие этого они легко интегрируются в разные белки без нарушения структуры, причем их липидсвязывающий карман, находящийся на противоположной стороне от N- и C-конца, всегда доступен для взаимодействия (Lemmon, 2008; Stahelin, 2009).

Кроме того, ассоциация всех липид-специфичных доменов с мембраной поверхностью, согласно данным ЯМР, происходит схожим образом. Сначала домены прикрепляются к мембране, связываясь с соответствующей инозитолфосфатной полярной группой, после чего происходит внедрение гидрофобных петель домена в бислой, что стабилизирует белок-мембранное взаимодействие (Lemmon, 2008).

Продемонстрирован еще один молекулярный механизм, с помощью которого амфитропные регуляторные белки могут селективно связываться с поверхностью мембран. Так, малые ГТФазы семейства RAS, контролирующие продолжительность сигнализации, выбирают



свои мембранные мишени с помощью так называемых полиосновных (т. е. положительно заряженных) развернутых участков, которые, так же как и рассмотренные выше глобулярные домены, селективно связываются с фосфоинозитидами (McLaughlin, Murray, 2005; Ahearn et al., 2011). Хотя причины такой селективности неясны, показано, что решающим фактором в выборе мишени Ras-ГТФазами является распределение положительно заряженных и гидрофобных остатков вдоль полиосновного неструктурированного участка (Behnia, Munro, 2005; Li et al., 2014).

Таким образом, совокупность данных позволяет сказать, что амфитропные регуляторные белки могут быть вовлечены в процессы клеточного управления путем адресной ассоциации с доминантными фосфоинозитидами оргanelл, которая происходит посредством либо глобулярных доменов, либо полиосновных неструктурированных участков, специфичных к фосфоинозитидам.

### Пептидопосредованные белок-белковые взаимодействия

Молекулярные механизмы образования примембранных комплексов, конечно, не могут ограничиваться только липид-специфичными белковыми взаимодействиями, т. е. должны быть дополнительные механизмы, с помощью которых осуществляются белок-белковые взаимодействия внутри комплекса. Поиск таких механизмов имеет свою историю, и интересно отметить, что изначально они были обнаружены при изучении не путей сигнальной трансдукции, а онкологической трансформации, когда был установлен новый тип белок-белкового взаимодействия, основанный на специфичном связывании развернутых пептидных участков с глобулярными белковыми доменами (Matsuda et al., 1991; Mayer et al., 1991; Cicchetti et al., 1992; Ren et al., 1993). Теперь этот тип взаимодействия называется пептидопосредованным белковым связыванием.

Впервые глобулярные домены, селективно связывающие развернутые пептидные участки, были обнаружены в протеинкиназе Src. Это тирозин-специфичная киназа, которая кодируется онкогеном вируса саркомы Рауса (Hunter, Sefton, 1980). Src-киназа состоит из трех глобулярных доменов, которые получили названия SH1, SH2 и SH3 (аббревиатуры взяты от Src-Homologue 1, 2 и 3 соответственно). SH1 является каталитическим (Тур-киназным) доменом, активность которого регулируется двумя другими, некаталитическими, доменами — SH2 и SH3 (Sadowski et al., 1986). Неактивная форма Src-киназы имеет два внутримолекулярных взаимодействия: между SH2-доменом и фосфорилированным С-концевым развернутым участком, а также между SH3-доменом и развернутым линкером, соединяющим SH2 и SH1. Наличие внешних партнеров, конкурирующих за SH3- и SH2-домены, приводит к высвобождению и активации каталитического домена SH1.

Дальнейшие исследования показали: во-первых, SH3- и SH2-домены предпочитают взаимодействовать с развернутыми пептидами, обогащенными соответственно пролинами и фосфорилированными тирозинами (Ren et al., 1993; Waksman et al., 1993), во-вторых, они являются автономными, т. е. их N- и С-концы сближены в пространстве, что делает возможным интеграцию SH3- и

SH2-доменов в другие белки без нарушения структуры (Overduin et al., 1992; Waksman et al., 1993).

Впоследствии обнаружилось, что SH3 и SH2 являются структурными доменами большого количества белков, участвующих в регуляции сигнальной трансдукции. Так, например, согласно последним данным, в дрожжах обнаружено около 30 белков с SH3-доменами, в белках дрожофилы таких белков около 100, а в белках человека — около 300 (Kärkkäinen et al., 2006). Сегодня известно почти 50 типов автономных глобулярных доменов, которые могут селективно связываться с развернутыми белковыми участками, а точнее, с определенными мотивами в этих участках, и для многих из них уже получены пространственные структуры (Mayer, 2015). В силу этих обстоятельств, а именно структурной автономности и распространенности, подобные домены, причем как липид-специфичные, рассмотренные выше, так и пептид-специфичные, стали называть модульными доменами.

### Запуск MAPK-сигнального каскада тирозинкиназным рецептором

Теперь вернемся к примеру с тирозинкиназным рецептором, с которого мы начали (см. рис. 1), и детально рассмотрим, как может проходить образование примембранного комплекса, запускающего, например, MAPK-сигнальный каскад. Этот путь сигнальной трансдукции включает в себя следующих принципиальных участников (рис. 2, а): тирозинкиназный рецептор (RTK), который фосфорилируется после связывания с лигандом, малая ГТФаза RAS, контролирующая продолжительность действия сигнала, ГДФ/ГТФ-обменный фактор SOS, активирующий RAS, и адаптерный белок GRB2, обеспечивающий связывание рецептора с фактором SOS.

После связывания с лигандом тирозинкиназный рецептор фосфорилируется и становится мишенью для адаптерного белка GRB2, содержащего один SH2- и два SH3-домена (рис. 2, б). С помощью SH2-домена GRB2 связывается с развернутым фосфотирозиновым мотивом рецептора, а с помощью двух доменов SH3 — с пролин-богатом мотивом фактора SOS (обозначено «PPPPPP») и, таким образом, фиксирует его примембранную локализацию. В свою очередь ГТФаза RAS рекрутируется к плазматической мембране за счет полиосновного развернутого участка, специфичного к  $PI(4,5)P_2$ , что приводит к увеличению вероятности взаимодействия белков SOS и RAS. SOS катализирует обмен ГДФ/ГТФ на RAS-ГТФазе и тем самым активирует ее. В активной конформации RAS взаимодействует с нижестоящим по сигнальной цепи белком (не показано), активирующим MAPK-сигнальный каскад.

Эта модель активации MAPK-сигнального пути прошла основательную экспериментальную проверку. Так, рекомбинантный белок SOS, модифицированный гидрофобным пептидом, способным встраиваться в мембрану (рис. 2, в), активировал RAS-ГТФазу без участия GRB2 и рецептора (Aronheim et al., 1994). Более того, было показано (Cheng et al., 1998), что в клетках, лишенных GRB2, рекомбинантный SOS с SH2-доменом из GRB2 связывается с рецептором и также активирует ГТФазу RAS и MAPK-каскад (рис. 2, г).

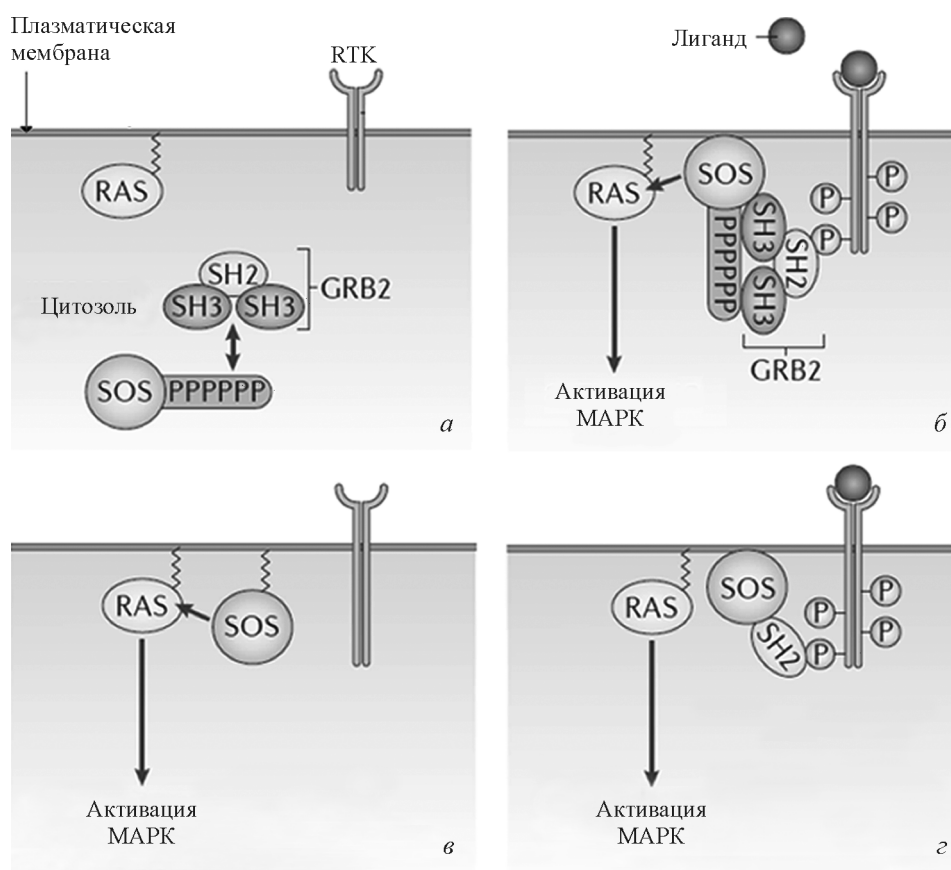


Рис. 2. Модульные взаимодействия белков в тирозинкиназном сигнальном комплексе, запускающем митогенактивируемый протеинкиназный (МАРК) сигнальный каскад.

*а* — белки, участвующие в образовании сигнального комплекса: RTK — тирозинкиназный рецептор, RAS — малая ГТФаза, SOS — гуаниннуклеотид обменный фактор, GRB2 — адаптерный белок. *б* — примембранный сигнальный комплекс, запускающий МАРК-каскад. *в* — рекомбинантный SOS, модифицированный гидрофобным пептидом, способный встраиваться в мембрану, активирует RAS и МАРК-каскад без участия GRB2 и рецептора. *з* — в клетках, лишенных GRB2, рекомбинантный SOS с SH2-доменом из GRB2 связывается с рецептором и активирует ГТФазу RAS и МАРК-каскад.

### Неструктурированные белки и белковые участки

Рассматривая молекулярные аспекты образования сигнальных белковых комплексов и в данном случае не только примембранных, но и функционирующих вдали от мембран, нельзя не обратить внимание на необычную деталь — на наличие специфичных взаимодействий с участием неструктурированных пептидных участков. Необычность этого явления в том, что существующая парадигма связывает пространственную структуру белка и кодированную в ней информацию с конкретной функцией и утверждает, что потеря структуры ведет к потере информации, необходимой для выполнения функции. Возникает вопрос: в какой форме информация о функции может храниться в неструктурированных белковых участках? Найти ответ на поставленный вопрос принципиально важно не только потому, что под сомнение поставлена одна из аксиом молекулярной биологии. По мере накопления структурных данных выяснилось, например, что около половины регуляторных белков эукариот имеют относительно длинные (~ 50 остатков) пептидные сегменты без определенной пространственной структуры, а 20 % из них полностью развернуты (см.: Database of protein disorder: [www.disprot.org](http://www.disprot.org)).

Исследования, ведущиеся сегодня в этом направлении, указывают путь преодоления наблюдаемого противоречия между структурой, точнее, ее отсутствием, и функцией у развернутых белков. Так, появились примеры, демонстрирующие, что развернутые белки способны сворачиваться в стабильные пространственные структуры, но не самостоятельно, а при взаимодействии с партнерами — с глобулярными белками или даже с такими же, как и они, развернутыми белками (Dyson, Wright, 2005). Считается, что в подобных случаях информация о функции может кодироваться структурой бинарного белкового комплекса. Другими словами, чтобы расшифровать структурно-функциональную связь в случае развернутых белков, необходимо рассматривать их связывание с партнером и сворачивание в пространственную структуру как единый процесс. Это явление получило название — конформационное сопряжение или сопряжение связывания и фолдинга (Stein et al., 2009). Пока все имеющиеся в литературе примеры конформационного сопряжения получены для неструктурированных пептидных участков цитозольных белков, однако вполне возможно, что такое же сопряжение может иметь место и в случае амфитропных белков, селективно взаимодействующих с мембранами посредством поли-основных развернутых участков.

## Заключение

1. Уникальные структурные детерминанты клеточных мембран («липидный код») являются важным фактором механизма управления сигнальной трансдукцией; белки, управляющие сигнальной трансдукцией, конструируются касетоподобным образом из модульных доменов, которые обеспечивают селективные молекулярные взаимодействия между партнерами; модульные домены могут распознавать липиды в мембранах или короткие аминокислотные последовательности (мотивы) развернутых белковых участков; в одном белке могут присутствовать несколько модульных доменов разного типа.

2. Посредством модульных доменов происходит сборка сигнальных комплексов, контролируется активность ферментов и осуществляется выбор конкретного пути сигнальной трансдукции.

## Список литературы

- Орлов Ю. Н. 2015. Фосфоинозитид-зависимые примембранные механизмы регулирования клеточных процессов. Биол. мембраны. 32 (3) : 151—168. (Orlov Yu.N. 2015. Phosphoinositide-dependent perimembrane mechanisms of regulating cellular processes. Biochemistry (Moscow). Supplement. Ser. A. Membrane Cell Biol. 9 (3) : 145—160.)
- Ahearn I. M., Haigis K., Bar-Sagi D., Philips M. R. 2011. Regulating the regulator: post-translational modification of RAS. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 13 : 39—51.
- Anglin T. C., Liu J., Conboy J. C. 2007. Facile lipid flip-flop in a phospholipid bilayer induced by gramicidin A measured by sum-frequency vibrational spectroscopy. Biophys. J. 92 : L01—L03.
- Aronheim A., Engelberg D., Li N., al-Alawi N., Schlessinger J., Karin M. 1994. Membrane targeting of the nucleotide exchange factor Sos is sufficient for activating the Ras signaling pathway. Cell. 78 : 949—961.
- Behnia R., Munro S. 2005. Organelle identity and the signposts for membrane traffic. Nature. 438 : 597—604.
- Bell R. M., Ballas L. M., Coleman R. A. 1981. Lipid topogenesis. J. Lipid Res. 22 : 391—403.
- Bevers E. M., Comfurius P., Dekkers D. W., Zwaal R. F. 1999. Lipid translocation across the plasma membrane of mammalian cells. Biochim. biophys. acta. 1439 : 317—330.
- Bevers E. M., Williamson P. L. 2010. Phospholipid scrambling: an update. FEBS Lett. 584 : 2724—2730.
- Buton X., Morrot G., Fellmann P., Seigneuret M. 1996. Ultrafast glycerophospholipid-selective transbilayer motion mediated by a protein in the endoplasmic reticulum membrane. J. Biol. Chem. 271 : 6651—6657.
- Cheng A. M., Saxton T. M., Sakai R., Kulkarni S., Mbamalu G., Vogel W., Tortorice C. G., Cardiff R. D., Cross J. C., Muller W. J., Pawson T. 1998. Mammalian Grb2 regulates multiple steps in embryonic development and malignant transformation. Cell. 95 : 793—803.
- Cicchetti P., Mayer B. J., Thiel G., Baltimore D. 1992. Identification of a protein that binds to the SH3 region of Abl and is similar to Bcr and GAP-rho. Science. 257 : 803—806.
- Contreras F. X., Sánchez-Magràner L., Alonso A., Goñi F. M. 2010. Transbilayer (flip-flop) lipid motion and lipid scrambling in membranes. FEBS Lett. 584 : 1779—1786.
- Devaux P. F., Morris R. 2004. Transmembrane asymmetry and lateral domains in biological membranes. Traffic. 5 : 241—246.
- Di Paolo G., De Camilli P. 2006. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. Nature. 443 : 651—657.
- Dippold H. C., Ng M. M., Farber-Katz S. E., Lee S. K., Kerr M. L., Peterman M. C., Sim R., Wiharto P. A., Galbraith K. A., Madhavarapu S., Fuchs G. J., Meerloo T., Farquhar M. G., Zhou H., Field S. J. 2009. GOLPH3 bridges phosphatidylinositol-4-phosphate and actomyosin to stretch and shape the Golgi to promote budding. Cell. 139 : 337—351.
- Dyson H. J., Wright P. E. 2005. Intrinsically unstructured proteins and their functions. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 6 : 197—208.
- Flesch F. M., Yu J. W., Lemmon M. A., Burger K. N. 2005. Membrane activity of the phospholipase C-delta1 pleckstrin homology (PH) domain. Biochem. J. 389 : 435—441.
- Folmer D. E., Elferink R. P., Paulusma C. C. 2009. P4 ATPases — lipid flippers and their role in disease. Biochim. biophys. acta. 1791 : 628—635.
- Futerman A. H., Riezman H. 2005. The ins and outs of sphingolipid synthesis. Trends Cell Biol. 15 : 312—318.
- Gaullier J. M., Simonsen A., D'Arrigo A., Bremnes B., Stenmark H., Aasland R. 1998. FYVE fingers bind PtdIns(3)P. Nature. 394 : 432—433.
- Gavin A. C., Aloy P., Grandi P. et al. 2006. Proteome survey reveals modularity of the yeast cell machinery. Nature. 440 : 631—636.
- Hamada K., Shimizu T., Matsui T., Tsukita S., Hakoshima T. 2000. Structural basis of the membrane targeting and unmasking mechanisms of the radixin FERM domain. EMBO J. 19 : 4449—4462.
- Hannun Y. A., Obeid L. M. 2008. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9 : 139—150.
- He J., Haney R. M., Vora M., Verkhusha V. V., Stahelin R. V., Kutateladze T. G. 2008. Molecular mechanism of membrane targeting by the GRP1 PH domain. J. Lipid Res. 49:1807—1815.
- Henneberry A. L., Wright M. M., McMaster C. R. 2002. The major sites of cellular phospholipid synthesis and molecular determinants of fatty acid and lipid head group specificity. Mol. Biol. Cell. 13 : 3148—3161.
- Honigsmann A., van den Bogaart G., Iraheta E., Risselada H. J., Milovanovic D., Mueller V., Müller S., Diederichsen U., Fasshauer D., Grubmüller H., Hell S. W., Eggeling C., Kühnel K., Jahn R. 2013. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate clusters act as molecular beacons for vesicle recruitment. Nat. Struct. Mol. Biol. 20 : 679—686.
- Hunter T., Sefton B. M. 1980. Transforming gene product of Rous sarcoma virus phosphorylates tyrosine. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 77 : 1311—1315.
- Itoh T., De Camilli P. 2006. BAR, F-BAR (EFC) and ENTH/ANTH domains in the regulation of membrane-cytosol interfaces and membrane curvature. Biochim. biophys. acta. 1761 : 897—912.
- John K., Schreiber S., Kubelt J., Herrmann A., Müller P. 2002. Transbilayer movement of phospholipids at the main phase transition of lipid membranes: implications for rapid flip-flop in biological membranes. Biophys. J. 83 : 3315—3323.
- Kärkkäinen S., Hiipakka M., Wang J. H., Kleino I., Vähä-Jaakkola M., Renkema G. H., Liss M., Wagner R., Saksela K. 2006. Identification of preferred protein interactions by phage-display of the human Src homology-3 proteome. EMBO Rep. 7 : 186—191.
- Knight J. D., Falke J. J. 2009. Single-molecule fluorescence studies of a PH domain: new insights into the membrane docking reaction. Biophys. J. 96 : 566—582.
- Kol M. A., de Kroon A. I., Killian J. A., de Kruijff B. 2004. Transbilayer movement of phospholipids in biogenic membranes. Biochemistry. 43 : 2673—2681.
- Krauss M., Haucke V. 2007. Phosphoinositide-metabolizing enzymes at the interface between membrane traffic and cell signaling. EMBO Rep. 8 : 241—246.
- Kutateladze T. G. 2006. Phosphatidylinositol 3-phosphate recognition and membrane docking by the FYVE domain. Biochim. biophys. acta. 1761 : 868—877.
- Kutateladze T. G. 2010. Translation of the phosphoinositide code by PI effectors. Nat. Chem. Biol. 6 : 507—513.
- Lemmon M. A. 2008. Membrane recognition by phospholipid-binding domains. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9(2) : 99—111.
- Lemmon M. A., Schlessinger J. 2010. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell. 141 : 1117—1134.



- Li L., Shi X., Guo X., Li H., Xu C. 2014. Ionic protein-lipid interaction at the plasma membrane: what can the charge do? *Trends Biochem. Sci.* 39 : 130—140.
- Locher K. P. 2016. Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 23 : 487—493.
- Lopez-Montero I., Rodriguez N., Cribier S., Pohl A., Velez M., Devaux P. F. 2005. Rapid transbilayer movement of ceramides in phospholipid vesicles and in human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 280 : 25 811—25 819.
- Matsuda M., Mayer B. J., Hanafusa H. 1991. Identification of domains of the v-crk oncogene product sufficient for association with phosphotyrosine-containing proteins. *Mol. Cell. Biol.* 11 : 1607—1613.
- Mayer B. J. 2015. The discovery of modular binding domains: building blocks of cell signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 16 : 691—698.
- Mayer B. J., Jackson P. K., Baltimore D. 1991. The noncatalytic src homology region 2 segment of Abl-tyrosine kinase binds to tyrosine-phosphorylated cellular proteins with high affinity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 88 : 627—631.
- Mayer B. J., Ren R., Clark K. L., Baltimore D. 1993. A putative modular domain present in diverse signaling proteins. *Cell.* 73 : 629—630.
- McLaughlin S., Murray D. 2005. Plasma membrane phosphoinositide organization by protein electrostatics. *Nature.* 438 : 605—611.
- Nagle C. A., An J., Shiota M., Torres T. P., Cline G. W., Liu Z. X., Wang S., Catlin R. L., Shulman G. I., Newgard C. B., Coleman R. A. 2007. Hepatic overexpression of glycerol-*sn*-3-phosphate acyltransferase 1 in rats causes insulin resistance. *J. Biol. Chem.* 282 : 14 807—14 815.
- Overduin M., Rios C. B., Mayer B. J., Baltimore D., Cowburn D. 1992. Three dimensional solution structure of the src homology 2 domain of c-abl. *Cell.* 70 : 697—704.
- Papadopoulos A., Vehring S., Lopez-Montero I., Kutschenko L., Stockl M., Devaux P. F., Kozlov M., Pomorski T., Herrmann A. 2007. Flippase activity detected with unlabeled lipids by shape changes of giant unilamellar vesicles. *J. Biol. Chem.* 282 : 15 559—15 568.
- Pawson T., Nash P. 2003. Assembly of cell regulatory systems through protein interaction domains. *Science.* 300 : 445—452.
- Puts C. F., Holthuis J. C. 2009. Mechanism and significance of P4 ATPase-catalyzed lipid transport: lessons from a Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pump. *Biochim. biophys. acta.* 1791 : 603—611.
- Quazi F., Molday R. S. 2011. Lipid transport by mammalian ABC proteins. *Essays Biochem.* 50 : 265—290.
- Ren R., Mayer B. J., Cicchetti P., Baltimore D. 1993. Identification of a 10-amino acid proline-rich SH3 binding site. *Science.* 259 : 1157—1161.
- Rothman J. E., Dawidowicz E. A. 1975. Asymmetric exchange of vesicle phospholipids catalyzed by the phosphatidylcholine exchange protein. Measurement of inside-outside transitions. *Biochemistry.* 14 : 2809—2816.
- Sadowski I., Stone J. C., Pawson T. 1986. A noncatalytic domain conserved among cytoplasmic protein-tyrosine kinases modifies the kinase function and transforming activity of Fujinami sarcoma virus P13. *Mol. Cell. Biol.* 6 : 4396—4408.
- Sasaki T., Takasuga S., Sasaki J., Kofuji S., Eguchi S., Yamazaki M., Suzuki A. 2009. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog. Lipid Res.* 48 : 307—343.
- Seet L. F., Hong W. 2006. The Phox (PX) domain proteins and membrane traffic. *Biochim. biophys. acta.* 1761 : 878—896.
- Shewan A., Eastburn D. J., Mostov K. 2011. Phosphoinositides in cell architecture. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3 : a004796.
- Stahelin R. V. 2009. Lipid binding domains: more than simple lipid effectors. *J. Lipid Res.* 50 (Suppl.) : S299—S304.
- Stein A., Pache R. A., Bernadó P., Pons M., Aloy P. 2009. Dynamic interactions of proteins in complex networks: a more structural view. *FEBS J.* 276 : 5390—5405.
- Waksman G., Shoelson S. E., Pant N., Cowburn D., Kuriyan D. 1993. Binding of a high affinity phosphotyrosyl peptide to the Src SH2 domain: crystal structures of the complexed and peptide-free forms. *Cell.* 72 : 779—790.
- Zimmermann P. 2006. The prevalence and significance of PDZ domain-phosphoinositide interactions. *Biochim. biophys. acta.* 1761 : 947—956.

Поступила 14 III 2018

## MODULAR INTERACTIONS OF PROTEINS IN THE PERIMEMBRANE SIGNALING COMPLEXES

Yu. N. Orlov

B. P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute, National Research Centre «Kurchatov Institute»,  
Gatchina, Leningrad Region, 188300,  
and Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, department of biophysics, St. Petersburg, 195251;  
e-mail: y.orlov@rambler.ru

The review considers molecular mechanisms that assure the assembly of protein complexes that control cell signaling. Such complexes often localize near the surface of cell membranes, and therefore we will call them «perimembrane» in the sense that their formation either directly or indirectly depends on the structure of the membrane surface. Among the proteins involved in the control of signal transduction, amphitropic proteins, whose activity depends on localization, are of particular interest: they perform their functions if bound to membranes and are not active if they are in the cytosol. This feature points to the selective interaction of amphitropic proteins with membranes. In this regard, it is assumed that the intracellular membranes have a unique structural code («lipid code»), which can be «read» by amphitropic proteins. Studies that have long been carried out in this field cover a wide range of issues related not only to the structure of membranes or amphitropic proteins, but also to the metabolism of lipids in membranes. Although many questions remain unclear, it is believed that the perimembrane mechanisms controlling signal transduction should include two factors — membrane lipid asymmetry and lipid-protein specific interactions.

Key words: signal transduction, amphitropic proteins, lipid asymmetry, phosphoinositides, modular domains, unstructured proteins