

INTRACELLULAR CALCIUM-BINDING PROTEINS

Part 1. Classification and structure

N. B. GUSEV

Calcium is universal element of signal transduction in the cell. Different signals transiently increase the intracellular concentration of Ca^{2+} . Ca^{2+} interacts with proteins having special binding sites designated as EF-hand. Ca^{2+} binding induces structural changes and regulates activity of these proteins.

Ионы кальция являются универсальным регулятором жизнедеятельности клетки. Внутри- и внеклеточные сигналы вызывают увеличение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме. Ca^{2+} взаимодействует с белками, имеющими специальные центры связывания, получившие название “EF-рука”. Связывание Ca^{2+} вызывает изменение структуры этих белков и регулирует их активность.

© Гусев Н.Б., 1998

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ Ca-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ Часть 1. Классификация и структура

Н. Б. ГУСЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Нормальное функционирование клетки находится под контролем многочисленных и разнообразных регуляторных систем. Клетка должна уметь осуществлять упорядоченные последовательности химических реакций, точно отслеживая накопление одних и потребление других веществ. Клетка должна с определенной периодичностью делиться, а образовавшиеся дочерние клетки – специализироваться на выполнение строго определенных функций. Помимо этого клетка должна воспринимать сигналы от соседних клеток и адекватно реагировать на них. Эта реакция может состоять в дальнейшей передаче полученного сигнала, изменении формы клетки, или ее перемещении, или переходе от состояния относительного покоя в состояние быстрого деления. Для того чтобы не происходило сбоев и не возникали драматические ошибки, необходимо, чтобы системы, участвующие в регуляции жизнедеятельности одной изолированной клетки и в ее общении с соседними клетками, были универсальными. Другими словами, клетки могут общаться друг с другом на разных языках (в организме синтезируется много разных гормонов и гормонподобных веществ), однако внутри клетки должен находиться своеобразный переводчик, обеспечивающий перевод сигнала с межклеточного языка на язык, понятный и доступный каждой клетке. Этот язык используется в повседневной жизни данной клетки и применяется для управления всеми внутриклеточными процессами вне зависимости от того, находится клетка в изолированном состоянии или является частью сообщества клеток.

В клетке существует довольно ограниченное количество универсальных регуляторов. К числу таких универсальных регуляторов относятся циклические нуклеотиды (циклическая АМФ, циклическая ГМФ, циклическая АДФ-рибоза), некоторые производные фосфолипидов (фосфоинозитиды, некоторые сфинголипиды), ионы кальция и некоторые другие сравнительно низкомолекулярные соединения. Как правило, в состоянии покоя концентрация этих веществ внутри клетки очень мала. Определенные внешние или внутриклеточные сигналы могут

приводить к кратковременному изменению концентрации этих сигнальных молекул. В ответ происходит лавинообразная активация многочисленных ферментативных систем и клетка адекватно реагирует на пришедший сигнал. Специальные системы занимаются быстрой уборкой сигнальных молекул. Эти молекулы либо разрушаются, либо выбрасываются из внутриклеточного пространства наружу, и клетка возвращается в свое исходное (неактивированное) состояние.

Рассмотрим более подробно функционирование одной из наиболее универсальных и широко распространенных регуляторных систем, связанных с ионами Ca^{2+} . До сих пор остается не очень понятным, почему клетка использовала именно Ca^{2+} в качестве универсального регулятора. Высказывается предположение, что первоначально клетка пыталась избавиться от ионов кальция потому, что Ca^{2+} образует плохо растворимые комплексы с фосфатами. В клетке много фосфатов, потому что именно они используются для создания и накопления богатых энергией соединений [1]. Сосуществование внутри клетки фосфатов и Ca^{2+} в высокой концентрации приводило бы к выпадению в осадок солей

фосфата кальция и парализовало бы деятельность клетки. Поэтому клеткой были созданы специальные транспортные системы, обеспечивающие удаление Ca^{2+} из цитоплазмы (см. статью Ю.А. Владимирова в “Соросовском Образовательном Журнале” в № 3 за 1998 год). Таким образом, вначале клетка избавлялась от Ca^{2+} как от вредного катиона. Позднее клетка использовала Ca^{2+} в качестве сигнального иона. Это стало возможным потому, что в состоянии покоя концентрация кальция в клетке очень мала и любое увеличение концентрации будет восприниматься клеткой как сильный сигнал. Помимо этого в клетке существует много систем быстрого удаления Ca^{2+} , которые обеспечивают быстрое тушение кальциевого сигнала.

Системы, удаляющие Ca^{2+} из клетки и поддерживающие низкий уровень этих ионов в состоянии покоя, встроены в мембраны. В наружной плазматической мембране расположены Ca -АТФаза, своеобразный насос, выкачивающий Ca^{2+} против градиента концентрации из клетки во внешнюю среду за счет гидролиза АТФ, и специальный Na^+ - Ca^{2+} -обменник, который в зависимости от условий может обменивать внутриклеточный Ca^{2+} на внеклеточный

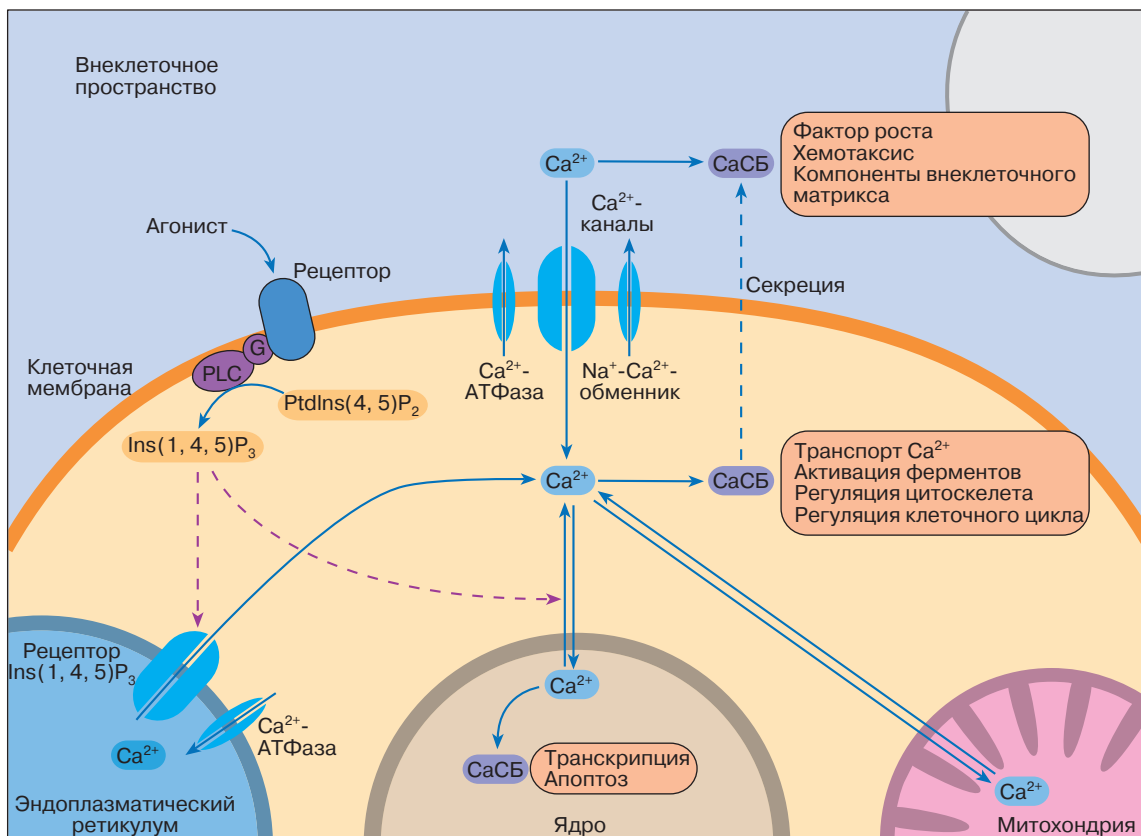


Рис. 1. Участие Ca -связывающих белков в передаче внутри- и внеклеточных сигналов. Использованные сокращения: $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$, инозитол 1,4,5-трифосфат; $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$, фосфатидилинозитол 4,5-дифосфат; PLC, фосфолипаза C; G, ГТФ-связывающие белки; CaCB , Ca -связывающие белки (по [2] с изменениями)

Na^+ (рис. 1). В мембранах эндоплазматического ретикулама расположена специальная Са-АТФаза, которая за счет гидролиза АТФ откачивает кальций из цитоплазмы и накапливает его внутри замкнутых цистерн ретикулама. Наконец, в митохондриях существует специальная транспортная система, перекачивающая кальций из цитоплазмы внутрь матрикса митохондрий (см. рис. 1). На поверхности клетки располагаются рецепторы, способные специфически взаимодействовать с гормонами. При связывании гормона с рецептором может происходить открывание специальных каналов, по которым Ca^{2+} устремляется из внеклеточного пространства внутрь клетки. Другие гормоны, взаимодействуя с рецепторами, активируют специальный фермент, фосфолипазу С, которая осуществляет гидролиз мембранного фосфолипида, фосфатидилинозитол-4,5-фосфата, с образованием водорастворимого шестиатомного фосфорилированного спирта – инозитол-1,4,5-трифосфата ($\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$) (см. рис. 1). Это соединение выполняет функции внутриклеточного посредника. Оно связывается со специальным рецептором на поверхности эндоплазматического ретикулама и открывает каналы для выхода Ca^{2+} из цистерн ретикулама в цитоплазму. Таким образом, гормоны и внутриклеточные посредники тем или иным способом увеличивают концентрацию кальция в цитоплазме.

В состоянии покоя концентрация кальция в цитоплазме поддерживается на уровне 10^{-6} – 10^{-7} М. Стимуляция клетки сопровождается кратковременным увеличением концентрации кальция до 10^{-5} М. Кальций взаимодействует со специальными Са-связывающими белками (СаСБ на рис. 1). После связывания Ca^{2+} эти белки изменяют свою структуру и оказываются способными влиять на многочисленные и разнообразные процессы. Внутри клетки Са-связывающие белки участвуют в регуляции клеточного цикла, влияют на активность различных ферментов, транспорт Ca^{2+} и состояние цитоскелета (см. рис. 1). Са-связывающие белки могут регулировать транскрипцию и апоптоз (программируемую гибель клетки) (см. рис. 1). Часть Са-связывающих белков может секретироваться наружу клетки. Во внеклеточном пространстве Са-связывающие белки могут выступать в качестве факторов роста, влиять на хемотаксис, а также взаимодействовать с компонентами внеклеточного матрикса (см. рис. 1).

Повышение концентрации Ca^{2+} внутри клетки оказывается своеобразным сигналом тревоги. Все транспортные системы мобилизуются на удаление Ca^{2+} из клетки. Происходит диссоциация Ca^{2+} из его комплекса с Са-связывающими белками, и клетка переходит в состояние покоя. Таким образом, в ответ на стимул в клетке происходит только кратковременное увеличение концентрации кальция от 10^{-7} – 10^{-6} до 10^{-5} М. Следует заметить, что внутри клетки всегда присутствуют ионы магния,

при этом концентрация Mg^{2+} составляет 10^{-3} – 10^{-2} М. Таким образом, для того чтобы использовать ионы кальция в качестве сигнального соединения, необходимо иметь внутри клетки специальные молекулы-рецепторы, которые должны отвечать нескольким требованиям. Во-первых, молекулы-рецепторы должны различать похожие между собой ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} , во-вторых, они должны связывать Ca^{2+} с достаточно высоким сродством, и, в-третьих, эти молекулы должны в зависимости от концентрации кальция по-разному взаимодействовать с белками-мишенями и обеспечивать Са-зависимое управление многочисленными процессами, происходящими в клетке. Мы рассмотрим классификацию и строение Са-связывающих белков, а во второй части статьи коснемся того, каким образом Са-связывающие белки могут регулировать активность белков-мишеней.

СТРУКТУРА Са-СВЯЗЫВАЮЩИХ УЧАСТКОВ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ЕФ-РУКИ

Ионы Ca^{2+} сильно гидратированы и удерживают вокруг себя 6–8 молекул воды. Таким образом, для того чтобы связать ионы двухвалентных металлов, надо заместить связанные с ними молекулы воды на группы, принадлежащие полипептидной цепи белка. Совершенно очевидно, что осуществить одномоментную замену 6–8 молекул воды на соответствующие лиганды (определенные остатки аминокислот) в структуре белка невозможно. Поэтому структура Са-связывающего участка должна обладать повышенной гибкостью и быть способной взаимодействовать как с полностью гидратированным ионом Ca^{2+} , так и с ионом кальция, потерявшим часть молекул воды. Повышенная гибкость необходима также для того, чтобы функциональные группы белка могли окружить ион кальция со всех сторон и как бы спрятать его от окружающих молекул воды. Гибкость обеспечивается за счет того, что многие Са-связывающие участки имеют структуру петли, состоящей из 12 аминокислотных остатков. Слева и справа (то есть с N- и С-концов) такая петля ограничена 12–14-членными α -спиральными участками (α -спиралями называют характерную укладку полипептидной цепи, которая похожа на скрученную пружину, стабилизированную системой водородных связей. Подробно эта структура описана в статье Н.К. Наградовой [3]). Таким образом, структура Са-связывающего центра имеет вид спираль–петля–спираль и каждый элемент этой структуры содержит около 12 аминокислотных остатков.

Впервые структура Са-связывающего центра была подробно исследована в начале 70-х годов Робертом Кретзингером и сотрудниками с помощью рентгеноструктурного анализа на кристаллах низкомолекулярного Са-связывающего белка из мышц рыб (так называемого парвальбумина). Именно

тогда и появился довольно необычный термин “EF-рука”, который широко используется при описании структуры Са-связывающих белков. Принято сравнивать Са-связывающие центры с правой рукой, при этом отставленные большой и указательный пальцы соответствуют двум α-спиральным участкам, а остальные сложенные пальцы как бы изображают Са-связывающую петлю (рис. 2). Название “EF-рука” появилось из-за того, что на рентгенограммах наиболее четко удавалось проследить ход двух α-спиральных участков, один из которых был обозначен буквой E, а другой – буквой F.

Рассмотрим более подробно, как Ca^{2+} координируется внутри Са-связывающей петли. Как правило, ионы кальция координируются 6–8 кислородсодержащими лигандами. Атомы кислорода, участвующие в связывании кальция, обычно принадлежат карбоксильным группам (–COOH) остатков дикарбоновых аминокислот (аспарагиновая и глутаминовая кислота), амидам (–CO–NH₂) этих аминокислот (аспарагину и глутамину), аминокислотам, содержащим спиртовые группы (–OH) в боковой цепи (серин и треонин), а также карбонильному атому кислорода пептидной связи (–CO–NH–). Все эти лиганды располагаются в положениях 1, 3, 5, 7, 9 и 12 12-членной Са-связывающей петли (рис. 3). Боковые группы этих аминокислотных остатков (или карбонильный атом кислорода аминокислоты, находящейся в положении 7) как бы повернуты внутрь петли и непосредственно участвуют в связывании Ca^{2+} . Если перейти от плоскостного изображения петли (левая часть рис. 3) к ее прост-

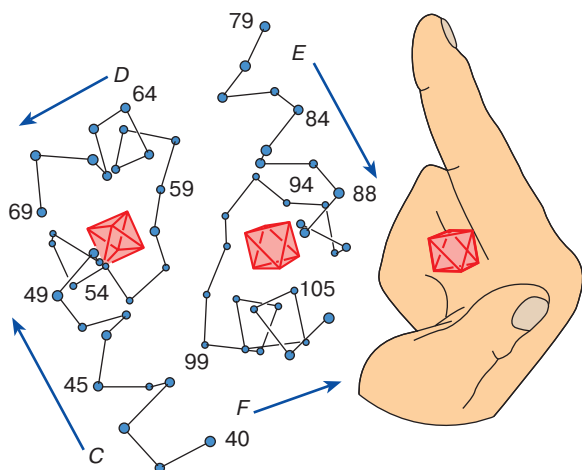


Рис. 2. Схема строения двух Са-связывающих центров парвальбумина. На левой части рисунка показан ход полипептидной цепи с обозначением номеров аминокислотных остатков. Стрелками с заглавными буквами латинского алфавита обозначены α-спиральные участки. Два октаэдра в центре петель изображают координационные сферы ионов кальция (по [4] с изменениями)

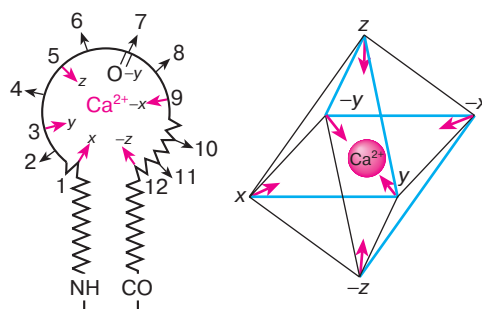


Рис. 3. Схема строения Са-связывающих петель. Слева – двумерное изображение Са-связывающей петли. Показаны две α-спирали, ограничивающие петлю с N- и C-концов. Заглавными буквами латинского алфавита и стрелками, повернутыми внутрь петли, обозначены аминокислотные остатки, непосредственно вовлеченные в связывание Ca^{2+} (остатки 1, 3, 5, 7, 9 и 12). Справа – упрощенная пространственная структура Са-связывающей петли. Жирными линиями выделен ход полипептидной цепи. Заглавными буквами латинского алфавита обозначены вершины октаэдра

ранственной модели (правая часть рис. 3), то окажется, что полипептидная цепь образует почти правильный октаэдр (две четырехгранные пирамиды, соединенные своими основаниями). В вершинах X, Y, Z, -Y, -X и -Z располагаются соответственно 1, 3, 5, 7, 9 и 12-й аминокислотные остатки петли. Кальций оказывается в центре октаэдра, а полипептидная цепь обворачивается вокруг этого иона и за счет атомов кислорода, принадлежащих лигандам, расположенным в вершинах октаэдра, удерживает ион кальция в правильном положении. Остальные остатки петли хоть и не участвуют непосредственно в связывании Ca^{2+} , также играют важную роль. Например, положения 8 и 10 часто занимают гидрофобные остатки. Эти остатки как бы экранируют находящийся внутри октаэдра кальций от молекул воды. Остатки глицина, зачастую расположенные в положениях 4 и 6, придают петле большую гибкость, столь важную на начальных этапах дегидратации ионов кальция. Таким образом, каждый аминокислотный остаток 12-членной петли играет определенную роль либо в связывании кальция, либо в поддержании структуры полипептидной цепи. Именно поэтому при всем разнообразии Са-связывающих петель различных Са-связывающих белков, принадлежащих к семейству белков EF-руки, удивительно похожи между собой. Анализируя первичную структуру белка (то есть последовательность аминокислот в полипептидной цепи) и сравнивая ее с консервативной последовательностью, характерной для Са-связывающей петли, можно предсказать наличие Са-связывающих участков в структуре белка.

Как уже отмечалось, многие лиганды, участвующие в связывании кальция, несут отрицательный

заряд. Это в первую очередь касается карбоксильных групп глутаминовой и аспарагиновой кислот. Очевидно, что при отсутствии кальция отрицательно заряженные группы Са-связывающей петли из-за электростатического отталкивания не могут быть сближены друг с другом и вся петля имеет более открытую, рыхлую структуру. В процессе связывания Ca^{2+} все лиганды Са-связывающей петли сближаются между собой и петля приобретает более компактную структуру. Са-связывающие петли способны связывать и ионы магния, однако практически всегда прочность связывания Mg^{2+} во много раз меньше прочности связывания Ca^{2+} . Размеры иона магния (0,65 Å) заметно меньше размеров иона кальция (0,99 Å). Таким образом, чтобы удержать ионы магния, необходимо заметно сильнее сблизить между собой отрицательно заряженные группы катионсвязывающей петли, что оказывается довольно затруднительным из-за электростатического отталкивания. Возможно, именно поэтому катионсвязывающие центры белков связывают Mg^{2+} с заметно меньшим средством, чем Ca^{2+} .

Итак, связывание Ca^{2+} или Mg^{2+} внутри катионсвязывающей петли должно приводить к изменению ориентации аминокислот, расположенных в вершинах октаэдра. Это изменение ориентации неминуемо ведет к изменению положения α -спиральных участков, расположенных с N- и C-концов Са-связывающей петли (рис. 3). При этом малые изменения в ориентации остатков внутри Са-связывающей петли могут приводить к большим изменениям в расположении α -спиральных участков. Это явление часто называют эффектом домино. Если в ряду поставленных близко друг от друга в вертикальном положении костяшек домино качнуть первую костяшку, то упадет весь ряд. Другими словами, малые изменения в структуре одного из концов приводят к глобальным изменениям структуры всех костяшек домино, стоящих в ряду. Таким образом, малые изменения в структуре катионсвязывающей петли, происходящие при связывании Ca^{2+} , могут приводить к существенным изменениям в структуре всего белка. Именно это явление лежит в основе способности Са-связывающих белков регулировать многие процессы, происходящие в клетке.

Мы довольно подробно разобрали структуру Са-связывающей петли и получили некоторые представления о том, как ионы Ca^{2+} связываются одиночным Са-связывающим центром. В настоящее время не обнаружено белков, содержащих только одну Са-связывающую петлю. Возможно, это обусловлено тем, что в изолированном состоянии эта структура недостаточно устойчива. Как правило, Са-связывающие участки образуют своеобразные пары, при этом один Са-связывающий центр как бы стабилизирует структуру другого Са-связывающего центра. Это довольно хорошо видно на рис. 2, где полипептидные цепи двух Са-связывающих пе-

тель идут антипараллельно друг другу, сближены между собой и стабилизируются за счет образования серии водородных связей. Проанализируем более подробно структуру некоторых Са-связывающих белков и рассмотрим некоторые функции, выполняемые этими белками в клетке.

ИЕРАРХИЯ Са-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ЕФ-РУКИ

В настоящее время описаны Са-связывающие белки, содержащие в своей структуре от двух до шести Са-связывающих центров (табл. 1). Разделим Са-связывающие белки на группы в зависимости от количества катионсвязывающих центров в полипептидной цепи.

Среди белков, содержащих в своей структуре два ЕФ-центра, наиболее простым является низкомолекулярный белок кишечника, названный кальбиндином (русская калька с англ. calbindin, что означает Са-связывающий). Это мономерный Са-связывающий белок, содержащий два Са-связывающих участка. Синтез этого белка активируется под действием витамина D, поэтому иногда кальбиндин называют витамин-D-индуцируемым белком кишечника. Этот белок, по всей видимости, отвечает за сорбцию кальция в тонком кишечнике и за транспорт Ca^{2+} внутрь клетки. Несколько более сложно устроены многочисленные и разнообразные белки, относящиеся к семейству белков S-100 (см. табл. 1). Как правило, это димерные белки, содержащие две одинаковые или разные полипептидные цепи, каждая из которых имеет два Са-связывающих участка типа ЕФ-руки (см. табл. 1). Эти белки обнаружены в цитоплазме различных клеток (нейроны, клетки глии, эпителиальные клетки, сердечная и скелетная мышца, плацента), а также во внеклеточном пространстве. Функции этих белков столь же разнообразны, как и их распространение. Белки семейства S-100 участвуют в регуляции активности многих ферментов, регулируют сборку и разборку элементов цитоскелета (микротрубочек, промежуточных филаментов, нитей актина), могут участвовать в процессах экзо- и эндоцитоза, выступать в качестве своеобразных факторов роста. Предполагается, что изменение уровня содержания этих белков в клетке может приводить к таким тяжелым заболеваниям, как кардиомиопатия, псориаз и болезнь Альцгеймера. Злокачественные перерождения тканей зачастую сопровождаются избыточным синтезом белков семейства S-100, поэтому эти белки могут использоваться в качестве биохимических маркеров возникновения опухолей.

К группе белков, содержащих в своей структуре три Са-связывающих участка, относятся парвальбумины, онкомодулин и аквеорин. Как правило, у этих белков один из ЕФ-центров потерял способность связывать Ca^{2+} (см. табл. 1). Это объясняется тем, что в структуре первой Са-связывающей петли

Таблица 1. Классификация Са-связывающих белков*

Название	Локализация	Функции	Строение
Белки с двумя EF-центрами			
Кальбиндин (S-100D)	Кишечник	Сорбция Ca ²⁺	
Семейство S-100, S-100A1	Мозг	Связь с цитоскелетом	
Метастазин S-100A4	Метастазирующие ткани	Фактор роста (?)	
Кальгицаррин S-100C	Гладкие мышцы	Регуляция сокращения (?)	
Белки с тремя EF-центрами			
Парвальбумины	Мышцы	Регуляция сокращения	
Онкомодулин	Плацента, опухоли	(?)	
Аквеорин	Кишечнополостные	Биолюминесценция	
Белки с четырьмя EF-центрами			
Кальмодулин	Повсеместно	Многообразные	
Тропонин С	Сердечные и скелетные мышцы	Регуляция сокращения	
Регуляторные легкие цепи миозина	Мышцы	Регуляция сокращения	
Щелочные легкие цепи миозина	Мышцы	Регуляция сокращения	
Рековерин/визинин	Палочки и колбочки сетчатки	Фоторецепция	
Белки с шестью EF-центрами			
Кальбиндин 26 кДа	Кишечник	Сорбция Ca ²⁺	
Кальретинин	Нейроны	(?)	

* Дугами с Ca²⁺ внутри отмечены участки, способные связывать кальций, дуги без Ca²⁺ внутри обозначают участки, потерявшие способность связывать кальций, красные линии слева и справа от дуг – α-спиральные участки.

произошли замены отрицательно заряженных остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот на нейтральные аминокислотные остатки или изменилась длина Са-связывающей петли. Большие количества парвальбуминов обнаружены в быстро сокращающихся поперечнополосатых мышцах различных животных. Поэтому высказывается предположение, что парвальбумины могут участвовать в регуляции сокращения мышц. Не исключено, что парвальбумины участвуют в регуляции уровня свободного Са²⁺ в клетке и выступают в роли своеобразного Са-буфера. Функции онкомодулина остаются пока не очень понятными, но предполагается, что он каким-то образом связан со злокачественным перерождением тканей. Аквеорин обнаружен в клетках некоторых видов медуз. При связывании кальция аквеорин испускает свет. Это обусловлено тем, что Са²⁺ индуцирует окисление низкомолекулярного органического соединения, связанного с аквеори-

ном. Этот процесс окисления и приводит к испусканию света.

Группа Са-связывающих белков, содержащих в своей структуре четыре Са-связывающих центра, обширна. К этой группе относится вездесущий кальмодулин, участвующий в регуляции огромного количества различных процессов. Тропонин С и легкие цепи миозина обеспечивают регуляцию сократительной активности поперечнополосатых и гладких мышц. Эти высокоспециализированные белки имеют в своем составе четыре потенциальных участка связывания Са²⁺. Однако из-за произошедших мутаций некоторые из этих участков потеряли способность связывать кальций (см. табл. 1). К этой же группе Са-связывающих белков относятся рековерин и визинин. Эти белки характерны для палочек и колбочек сетчатки и играют важную роль в процессах фоторецепции.

Наиболее сложно устроенные Са-связывающие белки содержат в своем составе шесть EF-центров (см. табл. 1). К этой группе белков относятся высокомолекулярный белок кишечника (кальбиндин 26 кДа) и кальретинин, обнаруженный в нейронах. Кальбиндин, по всей видимости, отвечает за сорбцию Ca^{2+} в тонком кишечнике. Функции кальретина до сих пор остаются недостаточно понятными.

Приведенный далеко не полный перечень Са-связывающих белков семейства EF-руки свидетельствует о том, что эти белки разнообразны по строению и способны влиять на огромное количество различных процессов, протекающих в клетке. Были предприняты попытки проследить эволюцию различных Са-связывающих белков. Вероятно, сначала возникли белки, содержащие только одну Са-связывающую петлю. Эта структура оказалась недостаточно устойчивой, произошло удвоение гена, кодирующего такую петлю, и возникли предшественники ныне существующих кальбиндина и белков семейства S-100. На следующем этапе произошло удвоение (дупликация) гена, кодирующего такой белок с двумя Са-связывающими центрами, и возникли белки – предшественники кальмодулина, содержащие четыре Са-связывающих центра. Белки, содержащие шесть EF-центров, могли возникнуть либо путем утроения (трипликации) исходного гена, кодирующего белок с двумя EF-центрами, либо путем удвоения половины гена, кодирующего кальмодулин. Наконец, белки, содержащие три EF-центра, произошли, по всей видимости, путем упрощения и потери части генетической информации, кодирующей белки с четырьмя Са-связывающими центрами. Нельзя исключить, что было несколько разных путей эволюции Са-связывающих белков.

БЕЛКИ-ХИМЕРЫ, СОДЕРЖАЩИЕ В СВОЕМ СОСТАВЕ Са-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ЦЕНТРЫ EF-РУКИ

Как следует из сказанного, структура типа EF-руки обеспечивает высокоэффективное и специфическое связывание Ca^{2+} . Эта структура явилась строительным блоком для создания белков, единственной функцией которых являются связывание Ca^{2+} и передача сигнала о связывании кальция к другим белкам-мишеням. Возможно, EF-рука оказалась столь удачным изобретением, что природа создала на базе этой структуры не только специфические Са-связывающие белки, но и использовала EF-руку для создания составных, химерных белков. В этом случае, вероятно, произошло слияние двух или большего числа генов. При этом один из генов кодировал белок, обладающий какой-то ферментативной активностью или выполняющий какую-то структурную роль, а второй ген кодировал Са-связывающий белок с двумя или четырьмя Са-связывающими центрами. После слияния таких генов образуется химерный белок, функциональная активность

которого напрямую регулируется ионами Ca^{2+} . Описано несколько примеров таких химерных белков.

Ферментативная активность внутриклеточной протеазы (фермента, гидролизующего пептидные связи) кальпаина регулируется ионами Ca^{2+} . Оказалось, что этот белок состоит из двух полипептидных цепей (рис. 4). Тяжелая цепь представляет собой типичный химерный белок, соединяющий в своей структуре активный центр, собственно обеспечивающий гидролиз пептидных связей, и четыре EF-руки, способные связывать Ca^{2+} . С тяжелой цепью связана легкая цепь, содержащая в своем составе четыре EF-руки. По общему строению эта цепь похожа на кальмодулин или тропонин С, однако довольно существенно отличается от них по своей структуре. Таким образом, в структуре кальпаина есть восемь потенциальных центров связывания Ca^{2+} .

Другим любопытным примером химерного Са-связывающего белка является α -актинин. Это структурный белок, обеспечивающий сшивание нитей актина друг с другом. α -Актинин представляет собой димер, состоящий из двух одинаковых полипептидных цепей. На одном конце каждой цепи располагается актинсвязывающий центр, а на другом – два Са-связывающих центра. Полипептидные цепи α -актинина расположены антипараллельно, поэтому Са-связывающие центры одной цепи контактируют с актинсвязывающим центром другой цепи (см. рис. 4). Вследствие этого связывание Ca^{2+} одним мономером влияет на актинсвязывающие свойства другого мономера α -актинина. Среди химерных Са-связывающих белков есть протеинкиназы (ферменты, осуществляющие фосфорилирование белка

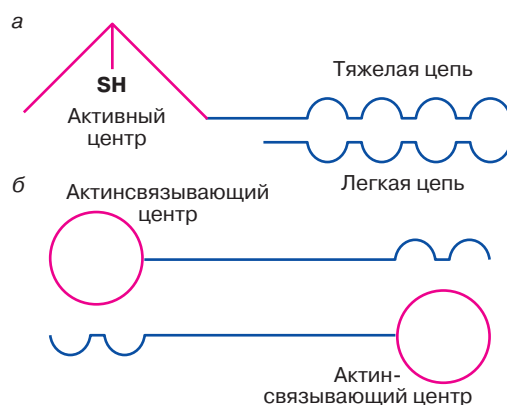


Рис. 4. Схема строения кальпаина (а) и α -актинина (б). Тяжелая цепь кальпаина содержит в своем составе активный центр (открытый треугольник) и четыре Са-связывающих петли. С тяжелой цепью связана легкая цепь, содержащая также четыре Са-связывающих петли (изображены в виде дуг). α -Актинин представляет собой гомодимер. Каждый мономер имеет на одном конце актинсвязывающий центр (большой шарик), а на другом конце – две EF-руки (две дуги)

с использованием АТФ), а также некоторые структурные белки, участвующие в создании цитоскелета (спектрин, дистрофин).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ca^{2+} является одним из универсальных регуляторов многочисленных процессов, происходящих в клетке. Существуют специальные транспортные системы, обеспечивающие поддержание низкой концентрации Ca^{2+} в цитоплазме. Внутри- и внеклеточные сигналы могут приводить к кратковременному увеличению концентрации Ca^{2+} в клетке. Специальные внутриклеточные белки, имеющие в своем составе характерную структуру типа EF-руки, связывают Ca^{2+} . Связывание кальция сопровождается изменением пространственной ориентации определенных групп белка и приводит к изменению его свойств. В зависимости от концентрации Ca^{2+} кальцийсвязывающие белки по-разному взаимодействуют со своими белками-мишенями и регулируют их активность.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Скулачев В.П.* Эволюция биологических механизмов запасаения энергии // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 5. С. 11–19.
2. *Schafer B.W., Heizmann C.W.* The S-100 Family of EF-hand Calcium-binding Proteins: Functions and Pathology // Trends Biochem. Sci. 1996. Vol. 21. P. 134–140.
3. *Наградова Н.К.* Внутриклеточная регуляция формирования нативной пространственной структуры белков // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 7. С. 10–18.
4. *Пермяков Е.А.* Кальцийсвязывающие белки. М.: Наука, 1993. 192 с.

* * *

Николай Борисович Гусев, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Область научных интересов – биохимия мышц. Автор более 90 научных работ.