

УДК 577.2.01.

## РОЛЬ ФОСФОЛИПИДНОГО ОКРУЖЕНИЯ В ТРАНСЛОКАЦИИ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ *E. COLI*

**Рябичко С.С., Иванова В.В., Алимova Ф.К.**

*ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,  
Казань, e-mail: anomalhead@mail.ru*

Мембранные белки выполняют ряд важных функций в клетке, включающих энергетические, сигнальные и транспортные функции. Транслокация и встраивание мембранных белков *E.coli* задействует такие мембранные комплексы, как SecYEG и Tat-транслокон, функционирующие по принципу ко-трансляционного и пост-трансляционного фолдинга. Фосфолипиды создают микроокружение, способствующее корректному фолдингу белков и конечной топологии. Фосфолипиды могут воздействовать как на транслоконовую систему, взаимодействующую с синтезируемой полипептидной цепью или уже сформировавшимся белком, так и непосредственно влиять на фолдинг белков, выступая в качестве липошаперонов. Взаимодействие фосфолипидов с мембранными белками носит динамичный характер, что определяет возможность ориентировать структуру белка в разных направлениях относительно мембраны. Вероятно, белки с двойной топологией имеют биологическое значение. Обсуждаются механизмы взаимодействия липидов с белками.

**Ключевые слова:** мембранные белки, фосфолипиды, транслокация

## THE ROLE OF PHOSPHOLIPID ENVIRONMENT IN THE MEMBRANE PROTEIN TRANSLOCATION IN *E. COLI*

**Ryabichko S.S., Ivanova V.V., Alimova F.K.**

*Kazan (Volga Region) federal university, Kazan, e-mail: anomalhead@mail.ru,*

Membrane proteins fulfill a number of important functions in the cells, including energetic, signaling and transport functions. Translocation and insertion of membrane proteins of *E.coli* utilize such membrane complexes as SecYEG and Tat-translocon, performing co-translational or post-translational folding. Phospholipids form an environment leading to correct membrane folding and final topology. Phospholipids may affect both on the translocation system interacting with synthesized polypeptide chain or with folded protein and directly on protein folding, being a lipochaperones. Interaction of phospholipids with membrane proteins has dynamic behavior that determines possibility to orientate protein structure in the different directions relatively to the membrane. Apparently, proteins with dual-topology may have biological meaning. The mechanisms of lipid and proteins interactions are discussed.

**Keywords:** membrane proteins, phospholipids, translocation

Примерно 20% около 4000 белков *Escherichia coli* являются мембранными белками [1]. Процесс встраивания мембранных белков в мембрану опосредован работой специальных белковых комплексов, формирующих канал. Считается, что только некоторые белки с малой молекулярной массой обладают способностью к спонтанному встраиванию, тогда как подавляющее большинство задействует транслоказы и инсертазы. Различают ко-трансляционный механизм встраивания, при котором фолдинг белка осуществляется в процессе встраивания, и пост-трансляционный, в процессе которого происходит транслокация уже свернутого в нативную структуру белка [2]. Известны как минимум две системы транслокации у *E.coli*: Tat-система и комплекс SecYEG.

Tat-система является менее изученной по сравнению с комплексом SecYEG, однако известно, что транслокация белками Tat происходит по пост-трансляционному механизму, то есть готовые к выполнению функций белки с нативной структурой транспортируются через мембрану. Tat-транслоказа (twin arginine translocation) со-

держит белки TatA, TatB и TatC. Белки TatA (молекулярная масса 9 кДа), TatB (18 кДа) имеют по одному трансмембранному домену, N-концевой сегмент располагается внутри цитоплазмы, C-конец ориентирован в сторону периплазматического пространства. Белок TatC содержит 6 трансмембранных доменов, N- и C-концевые сегменты расположены внутри цитоплазмы. Обнаруживают 2 крупных белковых комплекса, содержащих Tat-белки при сольубилизации мембраны с помощью детергентов. Первый комплекс состоит из TatA и относительно небольшого количества TatB, в то время как другой содержит почти эквимольное количество TatB и TatC белков. Оба комплекса достигают молекулярной массы свыше 600 кДа [3].

TatC является ответственным за распознавание сигнальной последовательности S/TRRxFLK, всегда содержащей 2 аргинина, участвующих в механизме транслокации и давших название данной системе. Длина сигнальной последовательности Tat-системы в среднем равна 38 аминокислотам, в то время как для Sec-транслокации длина составляет 24 аминокислоты.

В последовательности, распознаваемой Tat-системой, присутствует полярная область, по всей видимости, препятствующая взаимодействию с белками Sec-системы. Сигнальная последовательность удаляется сигнальной пептидазой непосредственно после транслокации. Считается, что TatA начинает формировать трансмембранный канал по мере связывания TatC с сигнальной последовательностью, при этом процесс формирования канала является зависимым от градиента мембранного потенциала. Образуется комплекс TatBC-TatA, который носит динамичный характер и распадается сразу после транспорта субстрата. Существуют сведения о том, что белок TatA обладает двойной топологией в мембране [4].

Существует ряд белков, выполняющих функцию контроля качества фолдинга транслоцируемых белков. Цитоплазматические шаперон-подобные белки в ряду ко-факторов взаимодействуют с синтезируемой полипептидной цепью для предотвращения преждевременного связывания сигнальной последовательности с Tat-транслоказой. Данный тип шаперонов получил название REMP (redox enzyme maturation protein) у *E.coli*, гомологи которого обнаружены и в других организмах [5].

#### **Структура и функции транслокона SecYEG *E. coli***

Основной системой секреции белков у *E.coli* является Sec-транслокон, выполняющий транспорт через мембрану или встраивание интегральных белков. Процесс транспорта мембранного белка к месту расположения в мембране начинается с мечения белка и его распознавания. Мечение мембранного белка происходит на достаточно раннем этапе его синтеза – до момента покидания полипептидной цепи рибосомы. Синтезируемая полипептидная цепь взаимодействует своим гидрофобным сегментом с сигнал-распознающей частицей SRP (от signal recognition particle) [6]. Бактериальная SRP состоит из белкового компонента Ffh и 4,5S РНК. Взаимодействующий сегмент, как правило, является первым трансмембранным доменом, однако может также быть удаленным от первого домена и даже не являться встраиваемым сегментом (с таким белком работает в дальнейшем инсертаза KdpD) [7].

Далее SRP с полипептидной цепью формирует комплекс с сигнальным рецептором SR, функцию которого в клетках *E.coli* выполняет белок FtsY, расположенный на мембране. Деагрегация комплекса и высвобождение целевого белка требует гидролиза ГТФ. Как SRP, так и FtsY изна-

тельно имеют связь с ГТФ, гидролиз которого помогает сформировать комплекс благодаря непосредственному взаимодействию с их NG-доменами. Ffh и FtsY имеют 2 гидрофобных домена (N и G) и один уникальный домен (M домен в SRP и A домен в FtsY). Ассоциация FtsY с мембраной включает как липидные, так и белковые мембранные факторы, одним из которых является компонент Sec-транслокона, белок SecY [8,9]. Взаимодействие FtsY с фосфолипидами активирует ГТФазную активность данного белка, при этом аффинность к мембране обладает как A-домен, так и NG-домен [10].

Структурный анализ комплексов NG доменов Ffh и FtsY из *Thermus aquaticus*, стабилизированных негидролизующим аналогом ГТФ гуанилилметиленидифосфонатом, показал наличие активного участка в Ffh/FtsY гетеродимере, сформированного двумя нуклеотидными связями [11]. После гидролиза ГТФ полипептидная цепь транспортируется в SecYEG канал и SRP с FtsY диссоциируют для возможности рециклирования. Процесс передачи пептидной цепи на SecYEG происходит при непосредственном взаимодействии FtsY с белком SecY [8].

Существует также гипотеза о наличии альтернативного механизма передачи полипептидной цепи на канал SecYEG, в котором белок FtsY играет ключевую роль [12]. Данная модель в основном базируется на изучении локализации рибосом. FtsY связывает рибосому с мембраной с помощью N-концевого A-домена, при этом рибосома остается связанной с мембраной после синтеза полипептидной цепи и готовой принять новую мРНК для трансляции. В случае если мРНК кодирует трансмембранный сегмент, рибосома перемещается к транслокону путем взаимодействия с SRP, узнающей гидрофобную последовательность. В данной модели встраивания мембранных белков FtsY может регулировать работу комплекса SRP, однако она является спорной, потому что результаты *in vitro* входят в противоречие с распределением A-домена, который в равной степени наблюдается и в цитоплазме, и в мембране.

Sec-транслоконовый комплекс содержит 7 белков, включая шапероновый белок SecB, АТФазу SecA, интегральный мембранный комплекс SecYEG, состоящий из белков SecY, SecE и SecG, а также два дополнительных белка, помогающих высвободиться белку в периплазматическое пространство SecD и SecF. Комплекс SecYEG присутствует в нативной форме в виде димера и образует канал, необходимый для

транспорта и встраивания белка в мембрану. Белок SecA является периферическим мембранным моторным белком, запуска-

ющим реакцию транслокации за счет гидролиза АТФ, который также присутствует в виде димера (рисунок) [13].

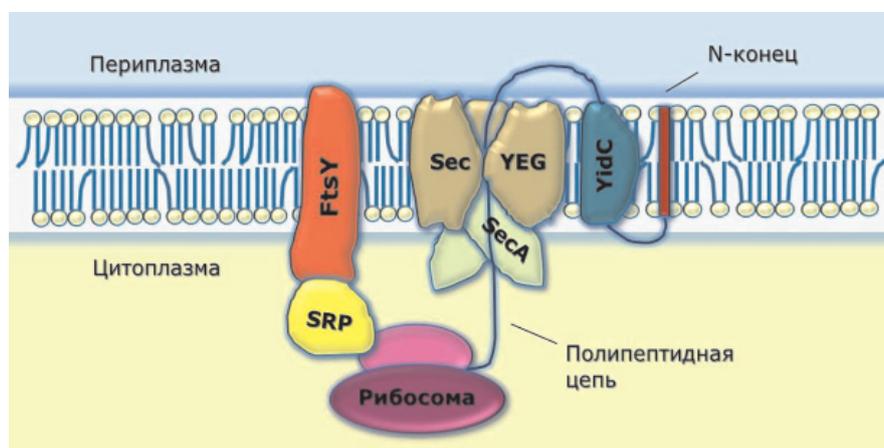


Схема Sec-транслоконовой системы в мембране *Escherichia coli*

Белок SecY является высокогидрофобным с молекулярной массой 48 кДа, у *E.coli* он содержит 443 аминокислоты. Это наибольший белок в SecYEG комплексе, наличие которого критично для встраивания и функционирования мембранных белков. SecY содержит 10 трансмембранных доменов, N и C-концы белка расположены внутри цитоплазмы. Данный белок содержится во всех прокариотах и имеет гомологи у эукариот и архей. Выравнивание последовательностей данного белка показали наличие консервативных аминокислот и важных участков, многие из которых были биохимически охарактеризованы. Летальная мутация была найдена в петле C5, которая ответственна за взаимодействие SecY с SecA [14].

SecE является небольшим интегральным белком, у *E.coli* молекулярная масса составляет 14 кДа и содержит 127 аминокислотных остатков. У большинства бактерий SecE представлен белком, содержащим единственный трансмембранный домен, гомологичный третьему домену и второй петле SecE *E.coli*. Удаление «лишних» сегментов у SecE *E.coli* не приводило к потере функциональности данного белка, однако стабильность его снижалась по сравнению с нативной структурой. Несмотря на малый размер и слабую консервативность аминокислотных остатков в трансмембранных доменах, SecE важен в функционировании транслоконовой системы. Относительно консервативная область у данного белка содержится в петле C2, формирующей  $\alpha$ -спираль, однако для инактивации белка требуется одновременная

замена во многих позициях. По всей видимости, третий трансмембранный сегмент выполняет функции закрепления C2 петли, а также участвует в каталитической активности транслокона, так как мутации в позициях L111R (лейцин заменен на аргинин) и D112P (аспарат на пролин) приводят к частичной потере активности [13].

Белок SecG – наименее связанная субъединица транслоконовой системы. SecG *E.coli* содержит 110 аминокислотных остатков, которые образуют молекулярную массу 12 кДа. Анализ гидрофобности белка выявил наличие трех трансмембранных сегментов, однако биохимические эксперименты с использованием методов конъюгации щелочной фосфатазы и протеолиза показали, что белок содержит только 2 трансмембранных участка, соединяющихся более слабым гидрофобным линкером, расположенным внутри цитоплазмы. SecG не влияет на жизнеспособность клеток, но оказывает стимулирующее действие на работу транслоконовой системы, которое более ярко выражено при пониженной температуре или отсутствии протон-движущей силы. Характерно, что для SecA-зависимой транслокации требуется инверсия топологии белка SecG, которая предположительно происходит во время ассоциации SecA с мембраной [15].

Несмотря на то, что белок SecA не является компонентом белок-транспортирующего канала, формируемого комплексом SecYEG, его присутствие необходимо для функционирования всей транслоконовой системы, так как транслокация происходит за счет использования энергии АТФ,

поставляемой АТФазой, которой является SecA. У *E. coli* данный белок имеет массу 102 кДа и состоит из 901 аминокислотного остатка. В клетке SecA может присутствовать как в растворимой форме, так и в мембрано-связанной. Цитозольный SecA присутствует в форме гетеродимера. В мембране SecA связывается с низкой аффинностью с отрицательно заряженными фосфолипидами и с высокой аффинностью с комплексом SecYEG. Связывание SecA с SecYEG формирует активную транслоказу и инициирует высокоаффинное взаимодействие SecA с SecE, связанной с пре-белком. Связывание SecA сигнальной последовательности усиливает связь SecA с SecE и способствует диссоциации домена зрелого белка от SecE, которое происходит при гидролизе АТФазой молекулы АТФ [16].

Предполагается, что существует несколько механизмов встраивания доменов в мембрану:

- 1) с помощью исключительно SecYEG комплекса;
- 2) при одновременном функционировании SecYEG с инсертазой YidC;
- 3) при работе исключительно инсертазы YidC;
- 4) при последовательном встраивании белков инсертазой YidC и комплексом SecYEG.

В первом случае комплекс выполняет функцию фолдинга и встраивания белка самостоятельно. При одновременной работе инсертазы YidC и комплекса SecYEG инсертаза является буферной системой, взаимодействующей с несколькими доменами и высвобождающей трансмембранные домены встраиваемого белка по одному в мембрану. YidC может также работать независимо, регулируя фолдинг и встраивание белков с короткой аминокислотной последовательностью, образующих 1–2 домена. При последовательной работе инсертазы YidC встраивает домен с N-конца, далее вплоть до C-конца инсерция происходит с участием комплекса SecYEG [17].

Считается, что немалую роль в процессе встраивания белков в мембрану играют взаимодействия между трансмембранными доменами. В частности, было установлено, что водородная связь между остатками полярных аминокислот, таких как аспарагин и аспарат, формируются как в мицеллах, образованных детергентами, так и в биологических мембранах. Водородные связи, формируемые внутри  $\alpha$ -спирали, стабилизируют данную структуру, уменьшая требуемую энергию для встраивания доменов в мембрану. В процессе образования водородных связей между радикалами ами-

нокислот один из остатков остается в непосредственной близости к транслокону, обеспечивая взаимодействие с радикалами следующего сегмента и облегчая встраивание остальных трансмембранных доменов [18, 19].

### Влияние фосфолипидов на процесс транслокации

Следует отметить, что как любой мембранный высокомолекулярный комплекс, транслокон подвержен влиянию фосфолипидного микроокружения, однако выраженность влияния не установлена. Известно, что отрицательно заряженные кислые фосфолипиды влияют на сборку димера SecA, необходимого для функционирования транслокона [20]. Сборка и активация SecA на цитоплазматической поверхности внутренней мембраны *E. coli* требует присутствия фосфатидилглицерина в составе мембраны. Кроме того, вероятно, защитное влияние ионов магния  $Mg^{2+}$ , предотвращающих гидролиз SecA в цитозоле, связано с кардиолипином, предположительно являющимся акцептором двухвалентных катионов в мембране [21].

Считается, что кардиолипид способствует стабилизации комплекса SecYEG в мембране, так как добавление его *in vitro* к комплексу, лишенного фосфолипидов, восстанавливало архитектуру и функции транслокона [22]. Однако такое влияние могло являться следствием неспецифической структуризации доменов в фосфолипидах и не зависеть от природы данного липида. Неизвестно, будет ли отсутствие кардиолипина в составе мембраны *in vivo* приводить к нарушению стабильности и функционирования транслоконовой системы, воздействуя, таким образом, на метаболизм клетки. Если наличие кардиолипина в мембране будет являться критичным для сборки и работы комплекса SecYEG, очевидно, что задействуются определенные механизмы, способствующие улучшению работы системы и задействующие группировки кардиолипина, отсутствующие у других фосфолипидов.

Было показано, однако, что функционирование транслокона SecYEG требует обязательного наличия анионных фосфолипидов в мембране, в то время как фосфатидилэтаноламин, не являющийся бислой-стабилизирующим липидом, оказывает стимулирующее действие, в особенности на АТФазную активность димера SecA [23]. Таким образом, для оптимальной работы транслоконовой системы необходимо соотношение не-бислойных фосфолипидов с анионными фосфолипидами,

при этом максимальная активность транслокона стремится к такому соотношению, которое близко к естественному. При этом для АТФазной активности SecA в хлоропластах, вероятно, достаточно сравнительно небольшого содержания анионных фосфолипидов в среде, но также отмечен значительный стимулирующий эффект галактолипидов [24].

Фосфолипидное окружение может воздействовать на транслоконовую систему, изменяя функциональность рецептора сигнал-распознающей частицы SRP – FtsY. Показано, что процесс распознавания SRP-синтезируемой полипептидной цепи начинается с конформационных изменений рецептора FtsY, находящегося в мембране. Взаимодействие FtsY с липидами приводит к развороту структуры таким образом, что становится возможно осуществление ГТФазной активности, необходимой для обеспечения связывания FtsY с SRP [25].

Влияние фосфолипидов на фолдинг мембранных белков возможно не только благодаря воздействию на транслоконовую систему. Во-первых, липидное микроокружение играет важную роль в формировании среды, в которой происходит фолдинг. Согласно гипотезе Уайта–Уимли, механизм фолдинга мембранного белка при встраивании происходит в 4 этапа:

- 1) распределение несвернутого белка в разделе фаз вода-бислой;
- 2) формирование вторичной структуры в разделе фаз;
- 3) встраивание пептида, имеющего вторичную структуру, в мембрану;
- 4) ассоциация мембраны со встроенным элементом.

При определении термодинамических параметров встраивания полипептидной цепи было выявлено, что немалый вклад в снижение энергетических затрат вносит образование водородных связей между группами, формирующими пептидные связи [26]. Кроме того, на процесс встраивания оказывает существенное влияние не только аминокислотный состав полипептидной цепи, но и позиции данных аминокислот относительно друг друга [27].

Если ранее считалось, что встроенный мембранный белок занимает относительно статичное положение, то данная точка зрения поменялась за последние 20 лет. Разумеется, что аминокислотная последовательность играет решающую роль в образовании структуры, однако было показано, что мембранные белки подвержены динамичному распределению зарядов в мембране, в результате которого проис-

ходит изменение структуры данных белков. Обнаружен ряд мембранных белков, для которых свойственна двойная топология, то есть возможность иметь 2 различные ориентации последовательности относительно мембраны. В первую очередь, к таким белкам следует отнести белки с малой молекулярной массой – транспортеры EmrE и SugE, а также белок устойчивости к камфоре CrcB [28].

Двойная топология белков может иметь функциональное значение, хотя для большинства белков с двойной топологией оно остается невыясненным. Примером белка обладающего равной функциональной значимостью, является дуктин. Дуктин является мембранным белком с 4 трансмембранными доменами, которые не только проявляют двойную топологию, но и двойную функцию. Следует, однако, отметить, что данный белок с двумя различными ориентациями в мембране и двумя функциями находится в разных клеточных мембранах. Гексамер дуктина образует  $V_0$ , являющийся частью вакуолярной V-АТФазы. В данном случае дуктин имеет топологию, при которой N- и C-концевые сегменты направлены в сторону межклеточного пространства. Однако дуктин является также и частью канала коннексона в щелевых контактах, где принимает противоположную топологию, и оба концевых сегмента уже направлены внутрь цитоплазмы [29].

Очевидно, что наличие двойной топологии мембранных белков связано с рядом физико-химических свойств, характерных для молекул, способных изменять ориентацию относительно мембраны. Гипотеза «positive inside rule», высказанная фон Хайне в 1986 году, заключается в том, что цитоплазматические междоменные петли интегральных мембранных белков бактерий имеют в 4 раза чаще положительно заряженные аминокислоты лизин и аргинин по сравнению с периплазматическими [30]. Вероятно, расположение положительно заряженных сегментов в пределах цитоплазмы стабилизирует положение белка вследствие взаимодействия их с отрицательно заряженными группами фосфолипидов. Однако было отмечено, что белки с двойной топологией имеют приблизительно равное отношение зарядов по разные стороны мембраны. Слабая заряженность белка может способствовать дестабилизации его в мембране, позволяя приобретать различное положение [31].

Определенную роль в топологии мембранных белков играют фосфолипиды мембраны. Пермеаза лактозы LacY *E.coli* инвертирует положение первых шести

трансмембранных доменов в мембране мутантных штаммов *E.coli*, не содержащей фосфатидилэтаноламин. Так как фосфатидилэтаноламин является цвиттерионом, то отсутствие данных молекул приводит к увеличению отрицательных зарядов в мембране, приносимых увеличением содержания фосфатидилглицерина и кардиолипина. Таким образом, наличие фосфатидилэтаноламина в мембране создает своеобразный барьер для переориентации положительно заряженных междоменных петель [32]. Кроме того, фосфатидилэтаноламин и инозитол оказывают непосредственное влияние на фолдинг белка, выступая в качестве так называемых липошаперонов [33].

### Заключение

Транслокация мембранных белков *Escherichia coli* осуществляется при непосредственном участии фосфолипидов путем воздействия их как на транслоконовую систему, так и непосредственно на фолдинг транслоцируемых белков. Динамичный характер взаимодействия фосфолипидов с белками в основном определяется перераспределением зарядов в мембране, их соотношением, то есть градиентом потенциала. Так как сигнальные клеточные системы задействуют передачу сигнала посредством мембранных белков, вероятно, исследование динамики взаимодействия мембранных белков с липидами откроет новые возможности для регуляции биохимии клетки. На данный момент происходит переосмысление многих процессов молекулярной биологии и становится очевидно, что количество растущей информации прямо пропорционально количеству вопросов, необходимых для решения.

*Авторы выражают глубокую признательность к.б.н., доценту каф. молекулярной биологии и биохимии Центра наук о здоровье Университета Хьюстон-Техас, Богданову М.В. за обсуждение и ценные замечания.*

### Список литературы/References

- Luirink J. Biogenesis of Inner Membrane Proteins in *Escherichia coli* / Luirink J., von Heijne G., Houben E., de Gier J.-W. // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2005. – Vol. 59. – P. 329–355.
- Lee P.A. The bacterial twin-arginine translocation pathway / P.A. Lee, D. Tullman-Ercek, G. Georgiou // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2006. – Vol. 60. – P. 373–395.
- Palmer T. The twin-arginine translocation (Tat) protein export pathways / T. Palmer, B.C. Berks // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2012. – Vol. 10(7). – P. 483–496.
- Leake M.C. Variable stoichiometry of the TatA component of the twin-arginine protein transport system observed *in vivo* single-molecule imaging / M.C. Leake, N.P. Greene, R.M. Godun, T. Granjon, G. Buchanan, S. Chen, R.M. Berry, T. Palmer, B.C. Berks // *PNAS.* – 2008. – Vol. 105(40). – P. 15376–15381.
- Frobel J. Twin-arginine-dependent translocation of folded proteins / J. Frobel, P. Rose, M. Muller // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2012. – Vol. 367. – P. 1029–1046.
- Bornemann T. Signal sequence-independent membrane targeting of ribosomes containing short nascent peptides within the exit tunnel / T. Bornemann, J. Jockel, M.V. Rodnina, W. Wintermeyer // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 15(5). – P. 494–499.
- Maier K.S. An amphiphilic region in the cytoplasmic domain of KdpD is recognized by the signal recognition particle and targeted to the *Escherichia coli* membrane / K.S. Maier, S. Hubich, H. Liebhart, S. Krauss, A. Kuhn, S.J. Fasey // *Mol. Microbiol.* – 2008. – Vol. 68(6). – P. 1471–1484.
- Angelini S. FtsY, the bacterial signal-recognition particle receptor, interacts functionally and physically with the SecYEG translocon / S. Angelini, S. Deitermann, H.G. Koch // *EMBO Rep.* – 2005. – Vol. 5. – P. 476–481.
- de Leeuw E. Anionic phospholipids are involved in membrane association of FtsY and stimulate its GTPase activity / E. de Leeuw, K. te Kaat, C. Moser, G. Menestrina, R. Demel, B. de Kruiff, B. Oudega, J. Luijck, I. Sinning // *EMBO J.* – 2000. – Vol. 19. – P. 531–541.
- Eitan A. The core *Escherichia coli* signal recognition particle receptor contains only the N and G domains of FtsY / A. Eitan, E. Bibi // *J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186(8). – P. 2492–2494.
- Focia P.J. Heterodimeric GTPase core of the SRP targeting complex / P.J. Focia, I.V. Shepotinovskaya, J.A. Seidler, D.M. Freymann // *Science.* – 2004. – Vol. 303(5656). – P. 373–377.
- Herskovits A.A. Evidence for coupling of membrane targeting and function of the signal recognition particle (SRP) receptor FtsY / A.A. Herskovits, A. Seluanov, R. Rajsbaum, C.M. ten Hagen-Jongman, T. Henrichs // *EMBO Rep.* – 2001. – Vol. 2. – P. 1040–1046.
- Veenendaal A.K.J. The protein-conducting channel SecYEG / A.K.J. Veenendaal, C. van der Does, A.J.M. Driessen // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2004. – Vol. 1694. – P. 81–95.
- Mori H. An essential amino acid residues in the protein translocation channel revealed by targeted random mutagenesis of SecY / H. Mori, K. Ito // *PNAS.* – 2001. – Vol. 98. – P. 5128–5133.
- Mitra K. Structure of the *E.coli* protein-conducting channel bound to a translating ribosome / K. Mitra, C. Schaffitzel, T. Shaikh, F. Tama, S. Jenni, C.L. Brooks, N. Ban, J. Frank // *Nature.* – 2005. – Vol. 438. – P. 318–324.
- Zimmer J. Structure of a complex of the ATPase SecA and the protein-translocating channel / J. Zimmer, Y. Nam, T.A. Rapoport // *Nature.* – 2008. – Vol. 455. – P. 936–943.
- Dalbey R.E. Assembly of bacterial inner membrane proteins / R.E. Dalbey, P. Wang, A. Kuhn // *Annu. Rev. Biochem.* – 2011. – Vol. 80. – P. 161–187.
- Gratkowski H. Cooperativity and specificity of association of a designed transmembrane peptide / H. Gratkowski, Q.H. Dai, A.J. Wand, W.F. DeGrado, J.D. Lear // *Biophys. Journal.* – 2002. – Vol. 83. – P. 1613–1619.
- White S.H. Translocons, thermodynamics, and the folding of membrane proteins / S.H. White // *FEBS Letters.* – 2003. – Vol. 555. – P. 116–121.
- Alami M. Nanodiscs unravel the interaction between the SecYEG channel and its cytosolic partner SecA / M. Alami, K. Dalal, B. Lelj-Garolla, S.G. Sligar, F. Duong // *EMBO Journal.* – 2007. – Vol. 26. – P. 1995–2004.
- Gold V.A. Allosteric regulation of SecA: magnesium-mediated control of conformation and activity / V.A. Gold, A. Robson, A.R. Clarke, I. Collinson // *The journal of biological chemistry.* – 2007. – Vol. 282. – P. 17424–17432.

22. Gold V.A.M. The action of cardiolipin on the bacterial translocon / V.A.M. Gold, A. Robson, H. Bao, T. Romantsov, F. Duong, I. Collinson // *PNAS*. – 2010. – Vol. 107. – P. 10044–10049.
23. van der Does C. Non-bilayer lipids stimulate the activity of the reconstituted bacterial protein translocase / C. van der Does, J. Swaving, W. van Klompenburg, A.J. Driessen // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275(4). – P. 2472–2478.
24. Sun C. Chloroplast SecA and Escherichia coli SecA have distinct lipid and signal peptide preferences / C. Sun, S.L. Rusch, J. Kim, D.A. Kendall // *J. Bacteriol.* – 2007. – Vol. 189(3). – P. 1171–1175.
25. Lam V.Q. Lipid activation of the signal recognition particle receptor provides spatial coordination of protein targeting / V.Q. Lam, D. Akopian, M. Rome, D. Henningsen, S.O. Shan // *J. Cell. Biol.* – 2010. – Vol. 190(4). – P. 623–635.
26. White S.H. Membrane protein folding and stability: physical principles / S.H. White, W.C. Whimley // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* – 1999. – Vol. 28. – P. 319–365.
27. Hessa T. Molecular code for transmembrane-helix recognition by the Sec61 translocon / T. Hessa, N.M. Meindl-Beinker, A. Bernsel, H. Kim, Y. Sato, M. Lerch-Bader, I. Nilsson, S.H. White, G. von Heijne // *Nature*. – 2007. – Vol. 450. – P. 1026–1030.
28. Daley D.O. Global topology analysis of the Escherichia coli inner membrane proteome / D.O. Daley, M. Rapp, E. Granseth, K. Melen, D. Drew, G. von Heijne // *Science*. – 2005. – Vol. 308. – P. 1321–1323.
29. Dunlop J. Membrane insertion and assembly of ductin: a polytopic channel with dual orientations / J. Dunlop, P.C. Jones, M.E. Finbow // *EMBO J.* – 1995. – Vol. 14. – P. 3609–3616.
30. von Heijne G. The distribution of positively charged residues in bacterial inner membrane proteins correlates with the trans-membrane topology / G. von Heijne // *EMBO J.* – 1986. – Vol. 5(11). – P. 3021–3027.
31. Rapp M. Identification and evolution of dual-topology membrane proteins / M. Rapp, E. Granseth, S. Seppala, G. von Heijne // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2006. – Vol. 13(2). – P. 112–116.
32. Bogdanov M.V. Lipid-dependent generation of dual-topology for a membrane protein / M.V. Bogdanov, W. Dowhan // *The journal of biological chemistry*. – 2012. – Vol. 287(45). – P. 37939–37948.
33. Bogdanov M.V. Lipid-assisted protein folding / M.V. Bogdanov, W. Dowhan // *The journal of biological chemistry*. – 1999. – Vol. 274. – P. 36827–36830.

**Рецензенты:**

Багаева Т.В., д.б.н., профессор кафедры биотехнологии Казанского (Приволжского) федерального университета, г. Казань;  
 Канарский А.П., д.т.н., профессор кафедры пищевой биотехнологии Казанского национального исследовательского технологического университета, г. Казань.  
 Работа поступила в редакцию 08.11.2013.