

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 57.053:577. 112.7:577.112.8

4. АТФ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА ABC (АТФ-BINDING CASSETTE TRANSPORTERS, ABC). НОМЕНКЛАТУРА, СТРУКТУРА, МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФУНКЦИЯ, УЧАСТИЕ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ (ОБЗОР)

Л. П. Смирнов

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

АТФ-связывающие транспортные белки семейства ABC (ATP-binding cassette transporters, ABC) – мембранные белки, осуществляющие выведение из клеток разнообразных субстратов через клеточные мембраны с помощью энергии, получаемой при гидролизе АТФ. В геноме человека закодировано 48 ABC-транспортеров, принадлежащих к восьми семействам: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG, ABCH. Молекула ABC состоит из двух нуклеотидсвязывающих доменов (NBD) и двух трансмембранных доменов (TMD) (NBD–TMD–NBD–TMD), осуществляющих перенос субстратов, либо существует в виде «полутранспортера», состоящего из одного NBD и одного TMD. Предполагается, что транспортный цикл ABC состоит из четырех стадий. Энергия, получаемая при гидролизе АТФ, расходуется на удаление субстрата из комплекса с молекулой транспортера и возвращение ее в исходное состояние. У млекопитающих ABC обнаружены, помимо раковых клеток, в тканях мозга, надпочечников, почек, легких, семенников, печени, плаценты, кишечника. Субстратами ABC являются широкий круг различных соединений как эндо-, так и экзогенного происхождения. Ряд ABC участвуют в процессах метаболизма ксенобиотиков, активно удаляя как липофильные соединения, которые проходят через плазматические мембраны, так и гидрофильные метаболиты и конъюгаты, которые образовались в I и II фазах биотрансформации. Проведен ряд исследований, в которых показано взаимодействие между ферментом CYP3A4 из группы цитохромов P450 (фаза I биотрансформации) и транспортером ABCB1. Обнаружено, что транспортер ABCG2 из печени и кишечника активно экспортирует метаболиты фазы II биотрансформации.

Ключевые слова: АТФ-связывающие транспортеры; ABC transporters; P-glycoprotein; MDR, BCRP; биотрансформация ксенобиотиков.

L. P. Smirnov. 4. ATP-BINDING CASSETTE TRANSPORTERS (ABC). NOMENCLATURE, STRUCTURE, MOLECULAR DIVERSITY, FUNCTION, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTICS TRANSFORMATION SYSTEM (A REVIEW)

ATP-binding cassette (ABC) transporters are membrane proteins responsible for removing various substrates from cells through cell membranes using the energy derived from ATP hydrolysis. The human genome codes for 48 ABC transporters, which are categorized into eight families: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG, ABCH. An ABC molecule consists of two nucleotide-binding domains (NBD) and two transmembrane domains (TMD) which transport substrates (NBD–TMD–NBD–TMD), or exists as a half-transporter consisting of one NBD and one TMD, which functions as a dimer. It is assumed that the ABC transport cycle is a four-stage one. The energy obtained in the hydrolysis of ATP is utilized to remove the substrate from the complex with the transporter molecule and restore it in its original state. In mammals, ABC were, apart from cancer cells, found in many tissues, such as the brain, adrenal glands, kidneys, lungs, testes, liver, placenta, intestines. ABC substrates encompass a wide range of compounds of both endo- and exogenous origin. Some ABC are involved in metabolizing xenobiotics, actively removing both lipophilic compounds that pass through the plasma membrane, and hydrophilic metabolites and conjugates formed in biotransformation phases I and II. A number of studies have demonstrated the interaction between the CYP3A4 enzyme from the P450 cytochrome group (biotransformation phase I) and the transporter ABCB1. The ABCG2 transporter from the liver and intestines was found to actively export metabolites of biotransformation phase II.

Key words: ATP-binding cassette (ABC) transporters; P-glycoprotein; MDR, BCRP; xenobiotic biotransformation.

Введение

Транспортеры – это мембраносвязанные белки, которые переносят различные соединения через мембраны и являются важным инструментом детоксикации ксенобиотиков. Известны два типа транспортеров. Первые осуществляют трансмембранный перенос молекул внутрь клетки. Это переносчики органических анионов (OATP, OAT) [Смирнов и др., 2017а, б], катионов и цвиттерионов (OCT-OCTN) [Смирнов, 2018]. Второй тип транспортеров осуществляет выведение продуктов метаболизма. В нем участвует семейство белков, объединенных названием АТФ-связывающие кассетные транспортеры (ATP-binding cassette transporters, ABC). ABC – семейство транспортных белков, являющихся одним из самых больших у живых организмов. Эти белки обнаружены во всех клетках всех видов от микроорганизмов до человека [Cvilink et al., 2009; Locher, 2009]. Их особенностью является то, что эти белки используют энергию АТФ для транспорта самых разнообразных соединений от ионов до молекул токсинов большого размера [Oswald et al., 2006]. ABC-транспортеры задействованы в разнообразных физиологических и патологических процессах, например, при развитии множественной лекарственной устойчивости (multidrug resistance, MDR), при онкогенезе, па-

разитарных инвазиях, поражениях патогенными микроорганизмами, в иммунных реакциях, при дифференциации стволовых клеток [Huls et al., 2009], метаболизме липидов, а также при дегенеративных патологиях белкового обмена [Abuznait et al., 2013; Pahnke et al., 2013]. Различные болезни человека, включающие кистозный фиброз, персистирующую гиперинсулинемическую гипогликемию, синдром Даби-на – Джонсона, болезни Штаргарта и Танжера, связаны с мутациями ABC [Gottesman, Ambudkar, 2001].

Сущность системы биотрансформации ксенобиотиков в клетке состоит в превращении чужеродных, часто токсических соединений в безопасные продукты с последующим их удалением. Эту систему условно можно представить как состоящую из четырех фаз. Импорт ксенобиотиков – это фаза 0 (ноль) биотрансформации, поскольку транспортеры (OATP, OAT, OCT-OCTN) непосредственно не участвуют в реакциях, осуществляемых в фазах I (окисление, восстановление или гидролиз) и II (реакции конъюгации с эндогенными молекулами) [Stieger, Meier, 1998]. Выведение продуктов детоксикации, в которой активно участвуют ABC-транспортеры, предложено обозначать как фазу III биотрансформации [Ishikawa, 1992].

В настоящем обзоре будут рассмотрены вопросы систематики, структуры и функции, мо-

лекулярного разнообразия ABC-транспортёров, их участия в функционировании системы биотрансформации у эукариотических организмов.

Номенклатура ABC-транспортёров

ABC-транспортёры – это мембраносвязанные белки, которые осуществляют перенос различных молекул через плазматические мембраны клеточной стенки и внутриклеточные мембраны эндоплазматического ретикулума, пероксисом и митохондрий [Dean et al., 2001].

Семейство ABC разделено на восемь подсемейств: ABCA, ABCB, ABCC, ABCE, ABCD, ABCF, ABCG и ABCH [Theodoulou, Kerr, 2015]. Транспортёры подсемейства H у млекопитающих не обнаружены. У белков подсемейства ABCE и ABCF отсутствуют трансмембранные домены, поэтому они не являются транспортёрами в классическом понимании. Один из представителей первого подсемейства – ABCA4 – транспортирует производные ретинола и обнаруживается только в фоторецепторах [Oswald et al., 2006].

Консолидированное решение по систематике ABC было принято в 1999 г. [Jones et al., 2009]. Белки обозначают с помощью обычного стиля шрифта, название генов выделяют курсивом. Заглавными буквами обозначаются только гены человека. У других видов гены ABC обозначаются строчными буквами: *Abca*, *Abcb* и т. д. Часто используется оригинальная номенклатура вместе с названием подсемейства. Например, Р-гликопротеин (Pgp, MDR1) носит обозначение ABCB1, как первый изученный представитель подсемейства ABCB.

На основании анализа аминокислотной последовательности ABC-белки были разделены на три класса [Dassa, Bouige, 2001]. Белки классов 1 и 3 являются классическими ABC-транспортёрами и содержат нуклеотидсвязывающие (NBD) и трансмембранные домены (TMD). Представители класса 1 имеют объединённые друг с другом NBD и TMD, в то время как у представителей класса 3 каждый домен закодирован как отдельная полипептидная цепь, поэтому TMD представлен отдельной трансмембранной (TM) структурой. Представители класса 2 (ABCE и ABCF) имеют два NBD, возможны дополнительные домены, но TMD отсутствуют.

ABC-транспортёры классов 1 и 3 разделяются на два подтипа, импортёры и экспортёры, в зависимости от направления переноса субстратов. ABC-импортёры присутствуют только у прокариот и транспортируют субстраты внутрь клетки. ABC-экспортёры, напротив, забирают

субстрат из цитоплазмы или с внутренней поверхности липидного бислоя и удаляют из клетки. Ряд ABC участвуют в процессах метаболизма ксенобиотиков, активно удаляя как липофильные соединения, которые проходят через плазматические мембраны, так и гидрофильные метаболиты и конъюгаты, которые образовались в I и II фазах биотрансформации.

Характеристика подсемейств

Подсемейство ABCA насчитывает 12 «полных» транспортёров, то есть состоящих из четырёх доменов (TMD–NBD–TMD–NBD), в отличие от «полутранспортёров», имеющих двухдоменную структуру (TMD–NBD) (рис. 1). В настоящее время его представители найдены только у позвоночных, а, например, у *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans* не обнаружены. Вероятно, гены этих ABC появились у позвоночных в процессе их эволюционного становления [Dean et al., 2001]. Известно, что ABCA1 принимает участие в транспорте холестерина и биосинтезе липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). ABCA2 найден в олигодендроцитах мозга, а ABCA4 специфичен для фоторецепторов палочек, его мутация приводит к синдрому дегенерации сетчатки (болезнь Штаргардта) [Gottesman, Ambudkar, 2001].

В состав подсемейства ABCB включены четыре «полных» транспортёра и семь «полутранспортёров». Наиболее изученным представителем этого подсемейства является ABCB1 (P-glycoprotein, Pgp, MDR – multidrug resistance). Он экспрессируется главным образом в печени, тканях гематоэнцефального барьера и участвует в защите клеток от широкого набора токсинов [Dean et al., 2001]. ABCB4 и ABCB11 идентифицированы в печени и принимают участие в секреции фосфатидилхолина и желчных кислот. Полутранспортёры подсемейства экспрессируются в лизосомах (ACBСB9) или в митохондриях (ACBСB6, 7, 8 и 10). Ген *ABCB7* расположен на X-хромосоме, его мутация приводит к сцепленной с X-хромосомой сидеробластической анемии и атаксии [Kispal et al., 1997].

Подсемейство ABCC (MRP, multidrug resistance protein) включает 12 «полных» транспортёров, выполняющих функции транспорта ионов, экстрюзии токсинов и передачи сигналов. Из них активное участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков принимают три белка (MRP1, 2, 3). ABCC1 (MRP1) экспортирует глутатионированные токсины, образующиеся в фазе II. ABCC2 и ABCC3 также экскретируют конъюгаты глутатиона и другие органические ионы.

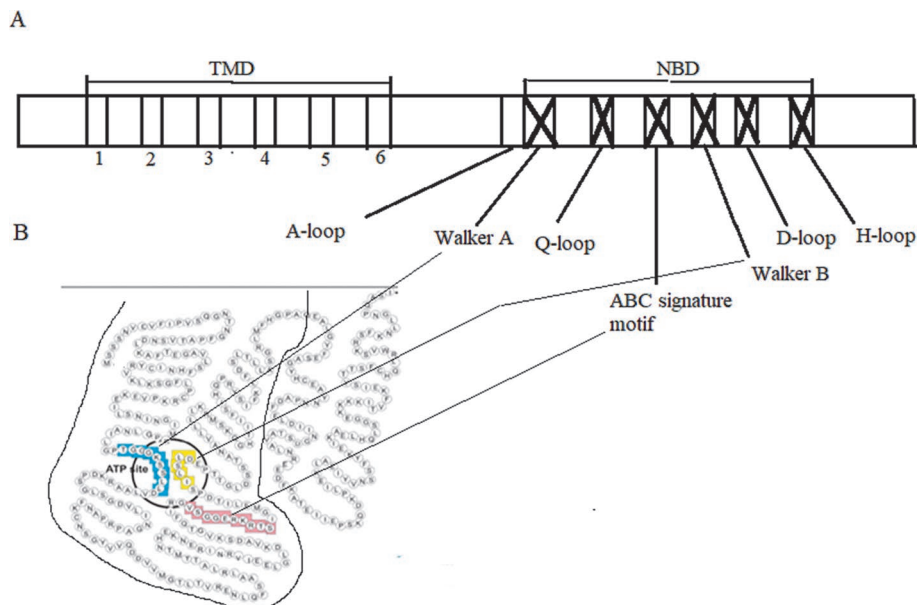


Рис. 1. Схема структуры «полутранспортера» BCRP (A) и его АТФ-связывающего сайта (NBD) (B).

Модификация рисунка из: [Ni et al., 2010]

Fig. 1. The scheme of half transporter BCRP structure (A) and its ATP-binding site (NBD) (B).

Modified from [Ni et al., 2010]

В подсемействе ABCD идентифицированы четыре гена, кодирующие «полутранспортеры», экспрессируемые исключительно в пероксисомах. Стоит отметить, что мутации гена *ABCD1* могут вызывать развитие сцепленной с X-хромосомой адренолейкодистрофии, которая характеризуется развитием нейродегенеративных процессов и может встречаться как у детей, так и у взрослых [Mosser et al., 1993]. Функция белков этого семейства остается невыясненной, но, исходя из сходства аминокислотных последовательностей, предполагается, что они участвуют в метаболизме липидов [Dean et al., 2001].

Количество генов, кодирующих белки подсемейства ABCG, отличается у разных организмов. У человека их пять, у дрозофилы 15, а у дрожжей – 10. Эти белки являются «полутранспортерами», составленными из N-концевого NBD и C-концевого TMD, но функционируют только в димерной форме. Высокий уровень экспрессии ABCG1 отмечен в макрофагах и индуцируется холестерином, а ABCG4 характерен для мозга [Dean et al., 2001]. В состав этого подсемейства входит транспортер ABCG2 (BCRP – breast cancer resistance protein), который экспортирует множество различных ксенобиотиков, включая лекарственные препараты, и вносит существенный вклад в множественную устойчивость раковых опухолей к химиотерапии.

Структура ABC-транспортеров

Молекула ABC-транспортера состоит из двух нуклеотидсвязывающих доменов (NBD) и одного или двух трансмембранных доменов (TMD), осуществляющих перенос субстратов (рис. 2). NBD различных ABC-транспортеров демонстрируют высокую степень сходства, главным образом в семи консервативных мотивах, отражающих общность механизмов использования АТФ в качестве источника энергии [Higgins et al., 1986; Kerr, 2002]. NBD имеют L-образную топологию и состоят из трех субдоменов (рис. 1, B). Более крупная доля I основного субдомена является RecA- и F1-АТФазоподобной структурой [Vetter, Wittinghofer, 1999]. В ее составе Walker A (GXXGXGKS [S/T]) и Walker B (hhhhDE) мотивы (где X – любой аминокислотный остаток (ao) и h – гидрофобный ao), общие для многих нуклеотидсвязывающих белков, а также A-, D-, H- и Q-петли. A-петля (25 ароматических ao) расположена на N-конце Walker A мотива. С ее помощью осуществляется позиционирование аденинового кольца АТФ в активном сайте [Ambudkar et al., 2006]. Консервативная D-петля (SALD) расположена сразу за C-концом Walker B мотива. Структурно эта петля соответствует ключевому участку, называемому P-петлей ферментов семейства АТФаз [Oswald et al., 2006]. H-петля образует-

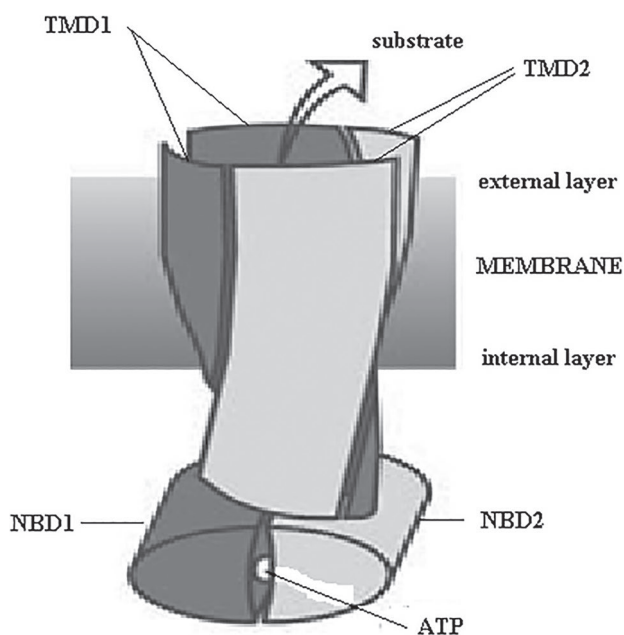


Рис. 2. 3D domain swapping у ABC-транспортеров.

Модификация рисунка из: [Dawson, Locher, 2006]

Fig. 2. 3D domain swapping of ABC transporters.

Modified from [Dawson, Locher, 2006]

ся из β -структуры и α -спирали на С-конце NBD, соединенных остатком гистидина, который выступает в роли шарнира и обеспечивает повышенный уровень гибкости участков этой петли. Гистидин взаимодействует с γ -фосфатной группой АТФ и консервативным остатком глутаминовой кислоты из D-петли. Q-петля состоит из восьми $\alpha\alpha$ с консервативным остатком глутамин на N-конце. Она связывает ядро АТФ с α -субдоменом и формирует часть интерфейса с TMD. Особенностью Q-петли является подвижность остатка глутамин, который в зависимости от фазы каталитического цикла обращен либо внутрь Mg^{2+} -АТФ-связывающего сайта, либо наружу после гидролиза АТФ. Кроме того, доля I содержит ABC β -субдомен, специфичный для ABC и АТФаз, играющий, вероятно, структурную роль [Karpowich et al., 2001]. Доля II, известная как α -спиральный субдомен, имеет специфическую, уникальную для ABC и АТФаз, последовательность (LSGGQ, линкерный пептид или С мотив), являющуюся диагностическим признаком ABC, и формирует несколько водородных связей с АТФ и непосредственно участвует в ее гидролизе. Любые изменения в этой последовательности блокируют гидролиз АТФ. Кроме того, LSGGQ способствуют образованию NBD-NBD димера [Ambudkar et al., 2006].

Мотивы Walker A и Walker B являются базой для формирования АТФ-связывающего «кармана». NBD ассоциированы в димер по типу

«голова к хвосту», два NBD формируют «двусторонний бутерброд» с АТФ, располагающейся вдоль поверхности димера (рис. 2), фланкированного Walker A и B последовательностями одной субъединицы, LSGGQ мотивом и D-петлей другой [Chen et al., 2003; Zaitseva et al., 2006]. В NBD-NBD-интерфейсе присутствуют две молекулы АТФ, два иона Mg^{2+} , а все мотивы вовлечены в координацию, за исключением D-петли, предположительно отвечающей за образование водородных связей между NBD. Каждый нуклеотидсвязывающий «карман» вмещает одну молекулу АТФ. Структура NBD различных ABC-транспортеров показывает, что кольцо аденина АТФ образует π - π связь с Tyr⁴⁰¹ А-петли. Tyr⁴⁰¹ стабилизируется Thr⁴³⁵ Walker A мотива через взаимодействие Ван дер Ваальса (расстояние между ОН группой Tyr⁴⁰¹ и концевым атомом С Thr⁴³⁵ 4,1 Å) [Ambudkar et al., 2006]. Положение Thr⁴³⁵ в Walker A мотиве высококонсервативно не только у Pgp птиц и млекопитающих, но и у ABC-транспортеров других видов. С другой стороны адениновое кольцо АТФ тесно взаимодействует с остатком Gln¹¹⁷⁵ (дистанция 3,8–4,2 Å), который расположен сразу после LSGGQ последовательности NBD2. Gln⁵³⁰ NBD1 и Gln¹¹⁷⁵ NBD2 располагаются над остатком Leu LSGGQ мотива и высококонсервативны у Pgp птиц и млекопитающих [Ambudkar et al., 2006]. Tyr⁴⁰¹ в NBD1 и, соответственно, Tyr¹⁰⁴⁴ в NBD2 также являются высококонсервативными остатками. Обнаружено, что их замена методом сайт-направленного мутагенеза на Ala или Cys приводила к потере способности связывать адениновое кольцо АТФ, в то время как при замене на другие ароматические $\alpha\alpha$ (Trp или Phe) функция сохранялась [Ambudkar et al., 2006]. Ион Mg^{2+} взаимодействует через водородную связь с остатком Asp Walker B мотива, помогая в поддержании геометрии активного сайта.

Основная масса ABC-экспортеров имеет два TMD, состоящих из 6 α -спиралей. В отличие от NBD TMD варьируют по аминокислотному составу, поэтому различными представителями этого семейства может транспортироваться большое число соединений. Большинство ABC-транспортеров высокоспецифичны и опознают очень ограниченное число субстратов, но некоторые, такие как ABCB1 (Pgp), транспортируют множество различных молекул [Higgins, 2007]. α -Спирали TMD примерно на 25 Å погружены в цитозоль для обеспечения контакта с NBD. В трансмембранных доменах ABC формируется кольцо из 12 α -спиралей в форме тора, состоящее из двух «арок» по шесть спиралей в каждой. Стоит отметить специфику постро-

ения трансмембранных доменов. Обнаружен феномен, показанный на многих белках и названный “3D domain swapping” [Liu, Eisenberg, 2002]. В частности, у транспортера Sav1866, как и у других ABC-транспортеров, трансмембранные спирали скручиваются, образуя два выраженных «крыла». Каждое «крыло» состоит из TM1–TM2 одной субъединицы и TM3–TM6 другой субъединицы [Dawson, Locher, 2006]. Обе субъединицы пространственно закручены таким образом, что внутриклеточные петли TMD1 соседствуют с таковыми NBD2 и наоборот. Схематически это представлено на рис. 2.

Транспортеры подсемейства ABCC, например MRP1, имеют дополнительный N-концевой TMD (TMD0), который меньше, чем основные TMD. Его удаление из ABCC1 не оказывало заметного влияния на транспортные функции, тем не менее линкерный участок между TMD0 и TMD1 очень важен для осуществления этим ABC своих функций [Bakos et al., 1998].

Тканевое распределение и субстраты ABC-транспортеров

У млекопитающих ABC-транспортеры обнаружены, не считая раковых клеток, во многих тканях – мозга, надпочечников, почек, легких, семенников, печени, плаценты, кишечника, в моноцитах, лимфоцитах, макрофагах. В гепатоцитах ABC участвуют в регуляции секреции липофильных молекул и удалении ксенобиотиков, попавших в организм [Johnstone et al., 2000a, b; Kusuhara, Sugiyama, 2001]. В частности, в нормальных тканях высокий уровень экспрессии белка резистентности рака молочной железы BCRP (breast cancer resistant protein) наблюдается в апикальных мембранах плацентарных синцитиотрофобластов, кишечном эпителии, гепатоцитах, эндотелиальных клетках капиллярной сети мозга и клетках проксимальных трубочек в почках, ответственных за абсорбцию, распределение, удаление лекарственных препаратов и эндогенных соединений, а также защиту ткани от воздействия ксенобиотиков.

Субстратами ABC-транспортеров являются широкий круг различных соединений (табл. 1). Кроме лекарственных средств эти белки транспортируют конъюгированные органические анионы, в частности, сульфатированные и глюкуронированные, такие как эстрон-3-сульфат, дегидроэпиандростерон и 17 β -эстрадиол 17-(β -D-glucuronide). Органические конъюгаты лекарств, ксенобиотиков и эндогенных соединений могут быть субстратами ABC. В частности, ABCG2 (BCRP) может экспортировать фосфорилированные нуклеозиды и нуклеотиды, главным

образом монофосфаты, такие как азидотимидин-5' – монофосфат; канцерогенный токсикант 2-амино-1-метил-6-фенилимидазопиридин, фототоксическое соединение (протопорфирин IX), фосфолипид фосфатидилсерин, флавоноид генистерин, мочевую кислоту и витамины. Представляется, что сульфатированные субстраты предпочтительнее для этого транспортера, чем глютационированные и глюкуронированные. По субстратной специфичности BCRP имеет «перекрывание» с Pgp и MRP1, хотя и неполное [Mao, Unadkat, 2005; Stacy et al., 2013].

Характеристика наиболее исследованных представителей семейства ABC

ABCB – высококонсервативное мультигенное подсемейство ABC, представленное у большого числа видов. ABCB1 (P-glycoprotein, Pgp, MDR1) – первый ABC, который был описан у человека [Juliano, Ling, 1976]. Белок найден в клетках гемато-энцефального барьера, в печени, кишечнике, почках, плаценте, створочных клетках.

Из набора изоформ Pgp – mdr1, mdr2, mdr3 у мышей, mdr1 и mdr2 у крыс, pgp1, pgp2, pgp3 у хомяков и MDR1, MDR2 у человека только MDR1 задействован во множественной лекарственной устойчивости [Jones, George, 1998].

Pgp человека – это четырехдоменный белок (TMD–NBD–TMD–NBD), который экспрессируется как полипептид (170 kDa), состоящий из 1280 аа и имеющий два домена по 610 аа, соединенных через линкер размером 60 аа [Loo, Clarke, 1999; Jones, George, 2000]. Оба домена имеют сходную структуру. Каждый домен содержит шесть трансмембранных α -спиралей, разделенных гидрофильными петлями. Представляется, что эти шесть мембраносвязанных доменов формируют путь, через который удаляемые молекулы пересекают мембраны, и на них лежит функция формирования субстратной специфичности. Связывание с субстратом осуществляют трансмембранные спирали 4–6 и 10–12. Этот механизм до конца не понят [Jones, George, 2000].

В 1992 г. описан второй ABC-транспортер, названный белком 1, ассоциированный с развитием множественной лекарственной устойчивости (MRP1, multidrug resistance-associated protein 1, ABCC1) [Barrand et al., 1994]. MRP1 у человека кодируется геном *MRP1* и экспрессируется как одиночная полипептидная цепь с Mr 190 kDa и состоящая из 1531 аа. Для этого белка характерна трехдоменная структура – два основных и один дополнительный N-концевой (TMD0), всего 17 трансмембран-

Таблица 1. Основные эндо- и экзогенные субстраты некоторых ABC-транспортеров [Loscher, Potschka, 2005]
 Table 1. Main endogenous and exogenous ABC substrates [Loscher, Potschka, 2005]

Белок Protein	Субстраты Substrates
ABCB1 (Pgp)	Противораковые препараты: доксорубин, даунорубин, винбластин, винкристин, этопозид, тенипозид, паклитаксел, метотрексат Анальгетики: морфин Ингибиторы протеазы ВИЧ: ампренавир, индинавир, саквинавир Цитокины: IL-2, IL-4 Антидиарейные препараты: лоперамид Антигельминтики: ивермектин, абамектин Противорвотные препараты: домперидон, ондасетрон Сердечные гликозиды: дигоксин Флуоресцентные красители: родамин-123 Антидепрессанты: амитриптилин, нортриптилин, доксепин, венлафаксин, пароксетин Антибиотики: эритромицин, валяномицин, тетрациклины, флуорохинолин Средства против подагры: колхицин, гистамин Антагонисты H2-рецептора: циметидин Блокаторы кальциевых каналов: верапамил Противозепилептические препараты: фенитоин, карбамазепин, ламотригин, фенобарбитал, фелбамат, габапентин, топирамат Anticancer drugs: doxorubicine, daunorubicine, vinblastine, vincristine, etoposide, teniposide, paclitaxel, methotrexate Analgesics e. g., morphine HIV protease inhibitors: amprenavir, indinavir, saquinavir Cytokines. g., IL-2, IL-4 Antidiarrheal agents: loperamide Anthelmintic agents: ivermectin, abamectin Antiemetics: domperidone, ondansetron Cardiac glycosides: digoxin Diagnostic (fluorescent) dyes: rhodamine-123 Antidepressants: amitryptiline, nortryptiline, doxepin, venlafaxine, paroxetine Antibiotics: erythromycin, valinomycin, tetracyclines, fluoroquinolone Anti-gout agents: colchicines, histamine H2-receptor antagonists: cimetidine Calcium channel blocker: verapamil Antiepileptic drugs: phenytoin, carbamazepine, lamotrigine, phenobarbital, felbamate, gabapentin, topiramate
ABCC1 (MRP1)	Противораковые препараты: этопозид, тенипозид, винкристин Лейкотриены C4 (LTC4), D4, E4 Различные глутатион-, глюкуронид- и сульфат-конъюгаты, а также неконъюгированные соединения (флуоресцеин) Anticancer drugs: etoposide, teniposide, vincristine Leukotriene C4 (LTC4), D4, E4; Various glutathione, glucuronide, and sulfate conjugates, but also unconjugated compounds (fluorescein)
ABCC2 (MRP2)	Аналогично с MRP1 Similar to MRP1
ABCC3 (MRP3)	Транспортёр органических анионов со значительным сходством субстратной спецификации с MRP1 и MRP2 Organic anion transporter with considerable overlap in drug substrates with MRP1 and MRP2
ABCC4 (MRP4)	Противораковые препараты, такие как метотрексат, 6-меркаптопурин, тиогуанин Anticancer drugs such as methotrexate, 6-mercaptapurine, thioguanine
ABCC5 (MRP5)	цГМФ, цАМФ, 6-меркаптопурин, тиогуанин, флуоресцеин cGMP, cAMP, 6-mercaptapurine, thioguanine, fluorescein
ABCC6 (MRP6)	BQ-123 (анионный циклопентапептид, антагонист рецептора эндотелина) BQ-123 (an anionic cyclopentapeptide and endothelin receptor antagonist)
ABCG2 (BCRP)	Противораковые препараты, значительное субстратное перекрытие с Pgp, MRP1 и MRP2 Антрациклины, митоксантрон, бисантрен, празолин Several anticancer drugs; considerable substrate overlap with Pgp, MRP1, and MRP2. Anthracyclines, mitoxantrone, bisantrene, prazolin

ных α -спиралей, из которых 10, 11 и 16, 17 спирали участвуют в опознавании ксенобиотиков [Cole et al., 1992]. Удаление TMD0 из ABCC1

имеет незначительное влияние на функцию, а линкерный регион между TMD0 и TMD1 важен для функционирования [Bakos et al., 1998].

MRP1, так же как и Pgp, гликозилирован. Обнаружен в легких, семенниках, почках, скелетной и сердечной мускулатуре, плаценте.

Резистентный белок рака молочной железы (BCRP) – второй представитель подсемейства G в семействе ABC и обозначается как ABCG2. В 1998 г. он впервые был идентифицирован в клетках рака молочной железы линии MCF-7/AdrVp, устойчивой к воздействию препаратов [Doyle et al., 1998]. Молекулярная масса BCRP около 75 kDa (655 aa). В отличие от Pgp и MRP1 является «полутранспортером» [Ni et al., 2010; Natarajan et al., 2012]. BCRP функционирует в виде гомодимера. TMD белка содержит 6 TM α -спиралей. Стоит отметить, что имеется только один сайт N-гликозилирования в позиции 596 (Asn⁵⁹⁶), и он расположен на экстрацеллюлярной петле, соединяющей TM5 и TM6 [Wang et al., 2008].

Транспортный цикл ABC-транспортеров

Считается, что транспортный цикл ABC-транспортера включает четыре стадии (рис. 3) [Zolnerciks et al., 2011].

Стадия 1: экспортируемая молекула связывается с внутренней поверхностью высокоаффинного «кармана» TMD и дает начало транспортному циклу. Представляется вероятным, что соединения поступают в ABCB1 непосредственно с внутреннего слоя мембраны. Далее происходит захват молекул АТФ. При отсутствии транспортируемой молекулы TMD по принципу отрицательной обратной связи тормозят захват АТФ доменами NBD, уменьшая вероятность «бесполезной» траты энергии [Orelle et al., 2008]. Вероятно, что конформация TMD–TMD апо-формы ABCB1 в виде «перевернутого» V (рис. 3 (1)) необходима для полного открывания связывающей полости для приема молекул разного размера. Объем полости составляет более чем 6000 куб. Å [Aller et al., 2009]. Для того чтобы достичь этого эффекта, в процессе эволюции TMD возникла вторая связывающая спираль для сохранения прямого контакта с обоими NBD в течение всего транспортного цикла. Предполагается, что связывание экспортируемых молекул с TMD индуцирует конформационные изменения, которые передаются на NBD через связывающие спирали,

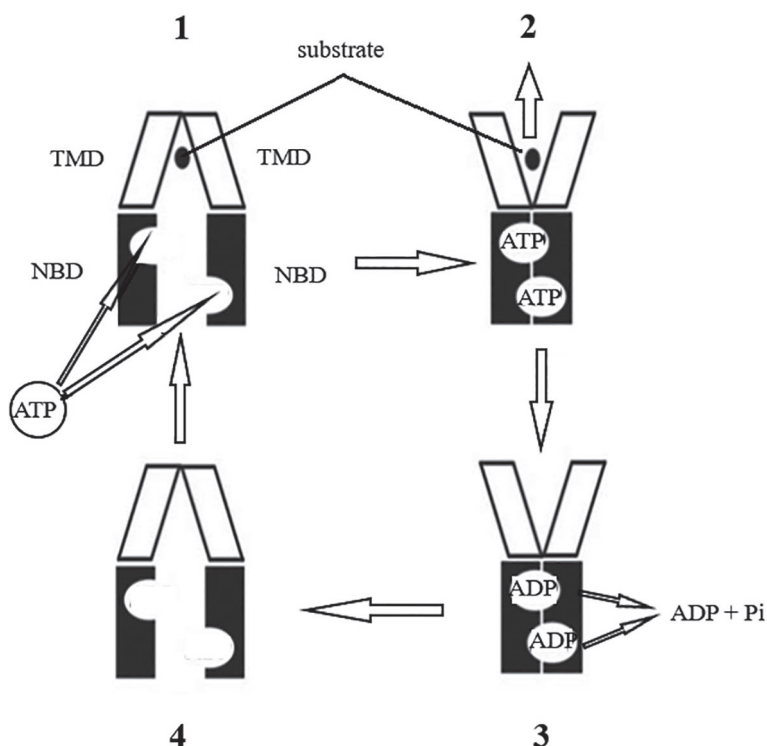


Рис. 3. Стадии транспортного цикла молекулы ABCB1 (Pgp) (описание в тексте).

Модификация рисунка из: [Jones, George, 2014]

Fig. 3. Stages of ABCB1 (Pgp) transport cycle (see the description in the text).

Modified from [Jones, George, 2014]

приводящие к образованию NBD–NBD димера. Расстояние, которое проходят NBD навстречу друг другу, достигает 20 Å [Holland, 2011].

Стадия 2: образование закрытого NBD-димера генерирует образование в TMD «кармана» с низкой аффинностью. Экспортируемая молекула переходит в этот «карман» и затем экспортируется. Далее происходит гидролиз АТФ, который возвращает молекулу транспортера в исходное состояние. Данные по структуре транспортера показывают, что «закрытая» конформация NBD-димера образует «сэндвич» с двумя молекулами АТФ внутри. Мартэн с соавторами [Martin et al., 2000] показали, что связывание негидролизуемого аналога АТФ (adenosine-5'- γ -thio-triphosphate) с ABCB1 снижает сродство к цитостатику винбластину; это подтверждает вывод о важности АТФ для осуществления транспортных функций. Изучение экспортера LmrA из бактерий показало, что высокоаффинный сайт контактирует с внутренним слоем мембраны, а сайт с низкой аффинностью – с наружным [van Veen et al., 2000]. Остается непонятным, как происходит «схлопывание» NBD. Неизвестен еще ряд важных деталей, например, как связывание АТФ с отдельными NBD происходит *in vivo*, когда TMD препятствует димеризации NBD; как стимуляция связывающих спиралей способствует присоединению АТФ к NBD; как происходит аллостерическое взаимодействие с обоими нуклеотидсвязывающими «карманами». Смитом с соавт. [Smith et al., 2002] впервые предложено, а Зайцевой с соавт. [Zaitseva et al., 2006] экспериментально подтверждено на изолированных NBD, что ведущую роль в этом процессе играет Q-петля.

Стадия 3: гидролиз АТФ инициирует формирование NBD–NBD димера. Конформация NBD-димера полного транспортера может представлять собой автокаталитическую единицу транспортного цикла, хотя предполагалось, что удаление транспортируемой молекулы должно выступать в роли триггера конформационных изменений в TMD, которые передаются NBD, что приводит к гидролизу АТФ [Higgins, Linton, 2004]. ABCB1 необходимы оба NBD для катализа, но гидролиз АТФ не происходит одновременно в обоих нуклеотидсвязывающих карманах. Предполагается, но не доказано, что обе молекулы АТФ гидролизуются в транспортном цикле. У некоторых ABC-экспортеров, таких как ABCB2/3 (TAP1/2) и ионный канал CFTR, в каждом цикле гидролизуется одна молекула АТФ [Chen et al., 2004; Zhou et al., 2006]. Простейшим предположением является то, что гидролиз одной или двух молекул АТФ может происходить в зависимо-

сти от количества энергии, требуемой для дестабилизации NBD–NBD димера.

Стадия 4: после гидролиза АТФ первым из NBD высвобождается остаток фосфорной кислоты, затем АДФ, и транспортер возвращается в исходное состояние. Точных сведений, как это происходит, нет, и могут существовать отличия в зависимости от того или иного транспортера. Например, не являющийся транспортером в классическом понимании ABC-белок MutS (задействован в репарации ДНК) удерживает одну молекулу АДФ до тех пор, пока связывание с ДНК не запускает конформационные изменения, приводящие к замещению АДФ на АТФ [Lamer et al., 2003].

Взаимодействие ABC с ферментами I и II фаз биотрансформации

В таблице 2 приведены основные ABC-транспортеры, участвующие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков у человека.

В ряде исследований показано взаимодействие между ферментом фазы I биотрансформации из группы цитохромов P450 (CYP3A4) и транспортером ABCB1 (Pgp) [Benet et al., 2003, 2004; Darwich et al., 2010]. Обнаружено, что существенный рост внутриклеточного содержания К-77 (ингибитор цистеиновых протеиназ) происходил, когда транспортные функции Pgp подавляли специфическим ингибитором (GG918, элакридар) либо циклоспорином – общим субстратом для Pgp и CYP3A. Интересно отметить, что этот эффект выявлен в печени, а в кишечнике он отсутствовал. Вероятно, высокий уровень аффинности Pgp к субстратам CYP3A приводит к ускорению их взаимодействия с ферментом путем увеличения числа повторных циклов, уменьшая тем самым концентрацию метаболитов внутри клетки. Этот процесс препятствует блокировке активности CYP3A из-за избыточного насыщения субстратом [Benet et al., 2004].

Показано, что транспортер ABCG2 (BCRP) из печени и кишечника активно экспортирует глюкуроны и сульфаты (метаболиты фазы II биотрансформации) генистеина и дайдзеина – изофлавонов, обладающих свойствами фитоэстрогенов и найденных в растениях сем. *Leguminosae* [Bircsak, Aleksunes, 2015]. Обнаружено, что экспорт глюко- и сульфоконъюгатов генистеина из клеток линии Caco2 снижался при использовании ингибитора BCRP (Ko143) в дозе 5 μ M [Yang et al., 2012]. Введение в культуру клеток HeLa данного ингибитора приводило к накоплению в них генистеин-глюкуронида [Jiang et al., 2012].

Таблица 2. Ключевые ABC-транспортеры человека, участвующие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков [Szakács et al., 2008]

Table 2. Key human ABC transporters contributing to the functioning of the xenobiotics transformation system [Szakács et al., 2008]

Название белка Protein	Размер белка Protein size	Тканевое распределение Tissue distribution	Топология Topology
ABCB1/Pgp/MDR1	1280 <i>ao</i> (aa) *	Гемато-энцефальный барьер, печень. Кишечник, почки, плацента, стволовые клетки Blood – brain barrier, liver. Intestine, kidney, placenta, stem cells	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCB11/BSEP/SPGP	1321 <i>ao</i> (aa)	Печень Liver	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC1/MRP1	1531 <i>ao</i> (aa)	Легкие, семенники, почки, скелетная и сердечная мускулатура, плацента Lung, testis, kidney, skeletal and cardiac muscle, placenta	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC2/MRP2	1545 <i>ao</i> (aa)	Гемато-энцефальный барьер, печень, кишечник, почки, плацента, легкие Blood – brain barrier, liver, intestine, kidney, placenta, lung	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC3/MRP3	1527 <i>ao</i> (aa)	Надпочечники, кишечник, поджелудочная железа, желчный пузырь, плацента, печень, почки, простата Adrenal gland, intestine, pancreas, gallbladder, placenta, liver, kidney, prostate	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC4/MRP4	1325 <i>ao</i> (aa)	Яичники, семенники, почки, легкие, простата Ovary, testis, kidney, lung, prostate	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC5/MRP5	1437 <i>ao</i> (aa)	Печень, семенники, скелетная и сердечная мускулатура, мозг Liver, testis, skeletal and cardiac muscle, brain	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCG2/BCRP	655 <i>ao</i> (aa)	Гемато-энцефальный барьер, плацента, печень, кишечник, молочная железа, стволовые клетки Blood – brain barrier, placenta, liver, intestine, breast, stem cells	NBD-TMD

Примечание. * *ao* (aa) – аминокислотные остатки (amino acids).

Note. * *ao* (aa) – amino acid residue (amino acids).

Заключение

АТФ-зависимые кассетные ABC-транспортеры – одно из самых больших суперсемейств белков, широко представленных у всех живых организмов, от прокариот до человека.

Изучение особенностей их функционирования помимо фундаментальной направленности имеет выраженный медицинский аспект, связанный с устойчивостью опухолей к химиотерапевтическому воздействию по причине высокой активности именно этой группы белков. Полученный к настоящему времени массив данных указывает на важную роль ABC-транспортеров в функционировании системы биотрансформации эндогенных соединений и ксенобиотиков. Однако ряд вопросов, связанных с механизмами экспорта, особенностями взаимодействия с ферментами I и II фаз биотрансформации, остаются нерешенными. Поэтому необходимость продолжения исследований этой чрезвычайно интересной группы транспортных белков не вызывает сомнений.

Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0076 (№ г. р. АА-АА-А17-117031710039-3) «Биохимические механизмы, определяющие сходство и различия в развитии адаптаций у гидробионтов морских и пресноводных экосистем»).

Литература

- Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В.
1. Транспортеры органических анионов (ОАТ). Молекулярное разнообразие, структура, функция, участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2017а. № 12. С. 29–42. doi: 10.17076/eb622
 2. Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В. Транспортеры органических анионов (ОАТ). Свойства, структура, участие в процессах биотрансформации ксенобиотиков у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2017б. № 12. С. 43–56. doi: 10.17076/eb629
 3. Смирнов Л. П. Белки-транспортеры органических катионов семейства SLC22 (OCT-OCTN). Моле-

кулярное разнообразие, структура, функция, участие в функционировании системы межорганной коммуникации у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 12. С. 3–19. doi: 10.17076/eb866

Abuznait A. H., Qosa H., Busneva B. A., El Sayed K. A., Kaddoumi A. Olive-oil-derived oleocanthal enhances beta-amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies // ACS Chem. Neurosci. 2013. Vol. 4(6). P. 973–982. doi: 10.1021/cn400024q

Aller S. G., Yu J., Ward A., Weng Y., Chittaboina S., Zhuo R., Harrell P. M., Trinh Y. T., Zhang Q., Urbatsch I. L., Chang, G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding // Science. 2009. Vol. 323. P. 1718–1722. doi: 10.1126/science.1168750

Ambudkar S. V., Kim I. W., Xia D., Sauna Z. E. The A-loop, a novel conserved aromatic acid subdomain upstream of the Walker A motif in ABC transporters, is critical for ATP binding // FEBS Lett. 2006. Vol. 580. P. 1049–1055. doi: 10.1016/j.febslet.2005.12.051

Bakos E., Evers R., Szakacs G., Tusnady G. T., Welker E., Szabo K., de Haas M., van Deemter L., Borst P., Varadi A., Sarcadi B. Functional multidrug resistance protein (MRP1) lacking the N-terminal transmembrane domain // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. P. 32167–32175. PMID: 9822694

Barrand M. A., Heppell-Parton A. C., Wright K. A., Rabbitts P. H., Twentyman P. R. A 190-kilodalton protein overexpressed in non-P-glycoprotein-containing multidrug-resistant cells and its relationship to the MRP gene // J. Natl. Cancer Inst. 1994. Vol. 86(2). P. 110–117.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Transporter-enzyme interactions: implications for predicting drug-drug interactions from in vitro data // Curr. Drug Metab. 2003. Vol. 4(5). P. 393–398. PMID: 14529371.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes // Int. J. Pharm. 2004. Vol. 277. P. 3–9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2002.12.002

Bircsak K. M., Aleksunes L. M. Interaction of iso-flavones with the BCRP/ABCG2 drug transporter // Curr. Drug Metab. 2015. Vol. 16(2). P. 124–140. PMID: 26179608.

Chen J., Lu G., Lin J., Davidson A. L., Quijcho F. A. A tweezers-like motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle // Mol. Cell. 2003. Vol. 12. P. 651–661. PMID: 14527411

Chen M., Abele R., Tampé R. Functional non-equivalence of ATP-binding cassette signature motifs in the transporter associated with antigen processing (TAP) // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. P. 46073–46081. doi: 10.1074/jbc.M404042200

Cole S. P., Bhardwaj G., Gerlach J. H., Mackie J. E., Grant C. E., Almquist K. C., Stewart A. J., Kurz E. U., Duncan A. M., Deeley R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line // Science. 1992. Vol. 258. P. 1650–1654. PMID: 1360704

Cvilink V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminths // Drug Metab. Rev. 2009. Vol. 41(1). P. 8–26. doi: 10.1080/03602530802602880

Darwich A. S., Neuhoff S., Jamei M., Rostami-Hodjegan A. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the “Advanced Dissolution, Absorption, Metabolism (ADAM)” model // Curr. Drug Metab. 2010. Vol. 11(9). P. 716–729. PMID: 21189140

Dassa E., Bouige P. The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms // Res. Microbiol. 2001. Vol. 152. P. 211–229. PMID: 11421270

Dean M., Rzhetsky A., Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily // Genome Res. 2001. Vol. 11. P. 1156–1166. PMID: 11421270

Doyle L. A., Yang W., Abruzzo L. V., Krogmann T., Gao Y., Rishi A. K., Ross D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95(26). P. 15665–15670. PMID: 9861027

Dawson R. J., Locher K. P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter // Nature. 2006. Vol. 443. P. 180–185. doi: 10.1038/nature05155

Gottesman M. M., Ambudkar S. V. Overview: ABC transporters and human disease // J. Bioenerg. Biomembr. 2001. Vol. 33(6). P. 453–458. PMID: 11804186

Higgins C. F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters // Nature. 2007. Vol. 446. P. 749–757. doi: 10.1038/nature05630

Higgins C. F., Linton K. J. ABC transporters, an introduction and overview // ABC Proteins / I. B. Holland (ed.). London: Academic Press, 2003. P. 317–335.

Higgins C. F., Hiles I. D., Salmond G. P., Gill D. R., Downie J. A., Evans I. J., Holland I. B., Gray L., Buckel S. D., Bell A. W. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria // Nature. 1986. Vol. 323. P. 448–450. doi: 10.1038/323448a0

Holland I. B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview // Essays Biochem. 2011. Vol. 50. P. 1–17. doi: 10.1042/BSE0500001

Huls M., Russel F. G., Masereeuw R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2009. Vol. 328(1). P. 3–9. doi: 10.1124/jpet.107.132225

Ishikawa T. The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump // Trends Biochem. Sci. 1992. Vol. 17, no. 11. P. 463–468. PMID: 1455517

Jiang W., Xu B., Wu B., Yu R., Hu M. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A9-overexpressing HeLa cells is an appropriate tool to delineate the kinetic interplay between breast cancer resistance protein (BRCP) and UGT and to rapidly identify the glucuronide substrates of BCRP // Drug Metab. Dispos. 2012. Vol. 40. P. 336–345. PMID: 22071170

Jones P. M., George A. M. A new structural model for P-glycoprotein // J. Gen. Membr. Biol. 1998. Vol. 166. P. 133–147. PMID: 9841738

Jones P. M., George A. M. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters what goes around comes around // Eur. J. Biochem. 2000. Vol. 267. P. 5298–5305. PMID: 10951188

Jones P. M., O'Mara M. L., George A. M. ABC transporters: a riddle wrapped in mystery inside an enigma // Trends Biochem. Sci. 2009. Vol. 34. P. 520–531. PMID: 10951188

Jones P. M., George A. M. A reciprocating twin-channel model for ABC transporters // Q Rev. Biophys. 2014. Vol. 47(3). P. 189–220. doi: 10.1017/S0033583514000031

Johnstone R. W., Ruefli A. A., Tainton K. M., Smyth M. J. A role for P-glycoprotein in regulating cell death // Leukemia Lymphoma. 2000a. Vol. 38. P. 1–11. doi: 10.3109/10428190009060314

Johnstone R. W., Ruefli A. A., Smyth M. J. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? // Trends Biochem. Sci. 2000b. Vol. 25. P. 1–6.

Juliano R. L., Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants // Biochim. Biophys. Acta. 1976. Vol. 455. P. 152–162. PMID: 990323

Karpowich N., Martsinkevich O., Millen L., Yuan Y. R., Dai P. L., MacVey K., Thomas P. J., Hunt J. F. Crystal structures of the MJ1267 ATP binding cassette reveal an induced-fit effect at the ATPase active site of an ABC transporter // Structure. 2001. Vol. 9. P. 571–586.

Kerr I. D. Structure and association of ATP-binding cassette transporter nucleotide-binding domains // Biochim. Biophys. Acta. 2002. Vol. 1561. P. 47–64. PMID: 11988180

Kispal G., Csere P., Guiard B., Lill R. The ABC transporter Atm1p is required for mitochondrial iron homeostasis // FEBS Lett. 1997. Vol. 418. P. 346–350. PMID: 9428742

Kusuhara H., Sugiyama Y. Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 1) // Drug Disc. Today. 2001. Vol. 6. P. 150–156. PMID: 11165188

Mosser J., Douar A. M., Sarde C. O., Kioschis P., Feil R., Moser H., Poustka A. M., Mandel J. L., Aubourg P. Putative X-lined adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters // Nature. 1993. Vol. 361. P. 726–730. doi: 10.1038/361726a0

Lamer M. H., Winterwerp H. H., Sixma T. K. The alternating ATPase domains of MutS control DNA mismatch repair // EMBO J. 2003. Vol. 22. P. 746–756. doi: 10.1093/emboj/cdg064

Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap // Protein Sci. 2002. Vol. 11(6). P. 1285–1299. doi: 10.1110/ps.0201402

Löscher W., Potschka H. Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family // NeuroRx. 2005. Vol. 2. P. 86–98. doi: 10.1602/neurorx.2.1.86

Locher K. P. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci. 2009. Vol. 364(1514). P. 239–245.

Loo T. W., Clarke D. M. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein // Biochem. Cell Biol. 1999. Vol. 77. P. 11–23. PMID: 10426282

Mao Q., Unadkat J. D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport // AAPS J. 2005. Vol. 7. P. E118–133. doi: 10.1208/aapsj070112

Martin C., Berridge G., Mistry P., Higgins C., Charlton P., Callaghan R. Drug binding sites on P-glycoprotein are altered by ATP binding prior to nucleotide hydrolysis // Biochemistry. 2000. Vol. 39. P. 11901–11906. PMID: 11009602

Natarajan K., Xie Y., Baer M. R., Ross D. D. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance // Biochem. Pharmacol. 2012. Vol. 83. P. 1084–1093. doi: 10.1016/j.bcp.2012.01.002

Ni Z., Bikadi Z., Rosenberg M. F., Mao Q. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) // Curr. Drug Metab. 2010. Vol. 11. P. 603–617. PMID: 20812902

Orelle C., Ayvaz T., Everly R. M., Klu C. S., Davidson A. L. Both maltose-binding protein and ATP are required for nucleotide-binding domain closure in the intact maltose ABC transporter // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 12837–12842. doi: 10.1073/pnas.0803799105

Oswald C., Holland I. B., Schmitt L. The motor domains of ABC-transporters. What can structures tell us // Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol. 2006. Vol. 372. P. 385–399. doi: 10.1007/s00210-005-0031-4

Pahnke J., Fröhlich C., Krohn M., Schumacher T., Paarmann K. Impaired mitochondrial energy production and ABC transporter function-A crucial interconnection in dementing proteopathies of the brain // Mech Ageing Dev. 2013. Vol. 134(10). P. 506–515. doi: 10.1016/j.mad

Smith P. C., Karpowich N., Millen L., Moody J. E., Rosen J., Thomas P. J., Hunt J. F. ATP binding to the motor domain from an ABC transporter drives formation of a nucleotide sandwich dimer // Mol. Cell. 2002. Vol. 10. P. 139–149.

Stacy A. E., Jansson P. J., Richardson D. R. Molecular pharmacology of ABCG2 and its role in chemoresistance // Mol. Pharmacol. 2013. Vol. 84. P. 655–669. doi: 10.1124/mol.113.088609

Stieger B., Meier P. J. Bile acid and xenobiotic transporters in liver // Curr. Opin. Cell Biol. 1998. Vol. 10. P. 462–467. PMID: 9719866

Szakács G., Váradi A., Özvegy-Laczka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox) // Drug Discovery Today. Vol. 13, no. 9/10. P. 279–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Theodoulou F. L., Kerr I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on // Biochem. Soc. Trans. 2015. Vol. 43. P. 1033–1040. doi: 10.1042/BST20150139

van Veen H. W., Margolles A., Muller M., Higgins C. F., Konings W. N. The homodimeric ATP-binding cassette transporter LmrA mediates multidrug transport by an alternating two-site (two-cylinder engine) mechanism // EMBO J. 2000. Vol. 19. P. 2503–2514. doi: 10.1093/emboj/19.11.2503

Vetter I. R., Wittinghofer A. Nucleoside triphosphate-binding proteins: different scaffolds to achieve phosphoryl transfer // Q. Rev. Biophys. 1999. Vol. 32. P. 1–56.

Wang H., Lee E. W., Cai X., Ni Z., Zhou L., Mao Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence // Biochemistry. 2008. Vol. 47. P. 13778–13787. doi: 10.1021/bi801644v

Yang Z., Zhu W., Gao S., Yin T., Jiang W., Hu M. Breast cancer resistance protein (ABCG2) determines distribution of genistein phase II metabolites: reevaluation of the roles of ABCG2 in the disposition of genistein // *Drug Metab. Dispos.* 2012. Vol. 40. P. 1883–1893. doi: 10.1124/dmd.111.043901

Zaitseva J., Oswald C., Jumpertz T., Jenewein S., Wiedenmann A., Holland I. B., Schmitt L. A structural analysis of asymmetry required for catalytic activity of an ABC-ATPase domain dimer // *EMBO J.* 2006. Vol. 25. P. 3432–3443. doi: 10.1038/sj.emboj.7601208

Zhou Z., Wang X., Liu H. Y., Zou X., Li M., Hwang T. C. The two ATP binding sites of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) play distinct roles in gating kinetics and energetic // *J. Gen. Physiol.* 2006. Vol. 128. P. 413–422. doi: 10.1085/jgp.200609622

Zolnercijs J. K., Andress E. J., Nicolaou M., Linton K. J. Structure of ABC transporters // *Essays Biochem.* 2011. Vol. 50. P. 43–61. doi: 10.1042/BSE0500043

Поступила в редакцию 02.04.2019

References

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V. 1. Transportery organicheskikh anionov (OAT). Molekulyarnoe raznoobrazie, struktura, funktsiya, uchastie v funkcionirovanii sistemy biotransformatsii ksenobiotikov u zhivotnykh (obzor) [1. Organic anion transporters. Molecular diversity, structure, contribution to the functioning of the xenobiotic biotransformation system in animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2017a. No. 12. P. 28–42. doi: 10.17076/eb622

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V. 2. Transportery organicheskikh anionov (OATR). Svoistva, struktura, uchastie v protsessakh biotransformatsii ksenobiotikov u zhivotnykh (obzor) [2. Organic anion transporters of the SLCO Family. Properties, structure, contribution to the functioning of the xenobiotic biotransformation system in animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2017b. No. 12. P. 43–56. doi: 10.17076/eb629

Smirnov L. P. 3. Belki-transportery organicheskikh kationov semeistva SLC22 (OCT-OCTN). Molekulyarnoe raznoobrazie, struktura, funktsiya, uchastie v funkcionirovanii sistemy mezhorgannoi kommunikatsii u zhivotnykh (obzor) [3. Organic cation transporters of the SLC22 family. Molecular diversity, structure, function, partnership in the functioning of the interorgan communication system of animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 12. P. 3–19. doi: 10.17076/eb866

Abuznait A. H., Qosa H., Busneva B. A., El Sayed K. A., Kaddoumi A. Olive-oil-derived oleocanthal enhances beta-amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies. *ACS Chem. Neurosci.* 2013. Vol. 4(6). P. 973–982. doi: 10.1021/cn400024q

Aller S. G., Yu J., Ward A., Weng Y., Chittaboina S., Zhuo R., Harrell P. M., Trinh Y. T., Zhang Q., Urbatsch I. L., Chang G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science.* 2009. Vol. 323. P. 1718–1722. doi: 10.1126/science.1168750

Ambudkar S. V., Kim I. W., Xia D., Sauna Z. E. The A-loop, a novel conserved aromatic acid subdomain upstream of the WalkerA motif in ABC transporters, is critical for ATP binding. *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580. P. 1049–1055. doi: 10.1016/j.febslet.2005.12.051

Bakos E., Evers R., Szakacs G., Tusnady G. T., Welker E., Szabo K., de Haas M., van Deemter L., Borst P., Varadi A., Sarcadi B. Functional multidrug resistance protein (MRP1) lacking the N-terminal transmembrane

domain. *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 32167–32175. PMID: 9822694

Barrand M. A., Heppell-Parton A. C., Wright K. A., Rabbitts P. H., Twentyman P. R. A 190-kilodalton protein overexpressed in non-P-glycoprotein-containing multidrug-resistant cells and its relationship to the MRP gene. *J. Natl. Cancer Inst.* 1994. Vol. 86(2). P. 110–117.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Transporter-enzyme interactions: implications for predicting drug-drug interactions from in vitro data. *Curr. Drug Metab.* 2003. Vol. 4(5). P. 393–398. PMID: 14529371

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes. *Int. J. Pharm.* 2004. Vol. 277. P. 3–9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2002.12.002

Bircsak K. M., Aleksunes L. M. Interaction of isoflavones with the BCRP/ABCG2 drug transporter. *Curr. Drug Metab.* 2015. Vol. 16(2). P. 124–140. PMID: 26179608

Chen J., Lu G., Lin J., Davidson A. L., Quijcho F. A. A tweezers-like motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle. *Mol. Cell.* 2003. Vol. 12. P. 651–661. PMID: 14527411

Chen M., Abele R., Tampé R. Functional non-equivalence of ATP-binding cassette signature motifs in the transporter associated with antigen processing (TAP). *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 46073–46081. doi: 10.1074/jbc.M404042200

Cole S. P., Bhardwaj G., Gerlach J. H., Mackie J. E., Grant C. E., Almquist K. C., Stewart A. J., Kurz E. U., Duncan A. M., Deeley R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science.* 1992. Vol. 258. P. 1650–1654. PMID: 1360704

Cvilink V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminthes. *Drug Metabol. Rev.* 2009. Vol. 41(1). P. 8–26. doi: 10.1080/03602530802602880

Darwich A. S., Neuhoff S., Jamei M., Rostami-Hodjegan A. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the “Advanced Dissolution, Absorption, Metabolism (ADAM)” model. *Curr. Drug Metab.* 2010. Vol. 11(9). P. 716–729. PMID: 21189140

Dassa E., Bouige P. The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms. *Res. Microbiol.* 2001. Vol. 152. P. 211–229. PMID: 11421270

- Dean M., Rzhetsky A., Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res.* 2001. Vol. 11. P. 1156–1166. PMID: 11421270
- Doyle L. A., Yang W., Abruzzo L. V., Krogmann T., Gao Y., Rishi A. K., Ross D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95(26). P. 15665–15670. PMID: 9861027
- Dawson R. J., Locher K. P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter. *Nature.* 2006. Vol. 443. P. 180–185. doi: 10.1038/nature05155
- Gottesman M. M., Ambudkar S. V. Overview: ABC transporters and human disease. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2001. Vol. 33(6). P. 453–458. PMID: 11804186
- Higgins C. F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters. *Nature.* 2007. Vol. 446. P. 749–757. doi: 10.1038/nature05630
- Higgins C. F., Linton K. J. ABC transporters, an introduction and overview. *ABC Proteins.* I. B. Holland (ed.). London: Academic Press, 2003. P. 317–335.
- Higgins C. F., Hiles I. D., Salmond G. P., Gill D. R., Downie J. A., Evans I. J., Holland I. B., Gray L., Buckel S. D., Bell A. W. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria. *Nature.* 1986. Vol. 323. P. 448–450. doi: 10.1038/323448a0
- Holland I. B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview. *Essays Biochem.* 2011. Vol. 50. P. 1–17. doi: 10.1042/BSE0500001
- Huls M., Russel F. G., Masereeuw R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009. Vol. 328(1). P. 3–9. doi: 10.1124/jpet.107.132225
- Ishikawa T. The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *Trends Biochem. Sci.* 1992. Vol. 17, no. 11. P. 463–468. PMID: 1455517
- Jiang W., Xu B., Wu B., Yu R., Hu M. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A9-overexpressing HeLa cells is an appropriate tool to delineate the kinetic interplay between breast cancer resistance protein (BCRP) and UGT and to rapidly identify the glucuronide substrates of BCRP. *Drug Metab. Dispos.* 2012. Vol. 40. P. 336–345. PMID: 22071170
- Jones P. M., George A. M. A new structural model for P-glycoprotein. *J. Membr. Biol.* 1998. Vol. 166. P. 133–147. PMID: 9841738
- Jones P. M., George A. M. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters what goes around comes around. *Eur. J. Biochem.* 2000. Vol. 267. P. 5298–5305. PMID: 10951188
- Jones P. M., O'Mara M. L., George A. M. ABC transporters: a riddle wrapped in mystery inside an enigma. *Trends Biochem. Sci.* 2009. Vol. 34. P. 520–531. PMID: 10951188
- Jones P. M., George A. M. A reciprocating twin-channel model for ABC transporters. *Q. Rev. Biophys.* 2014. Vol. 47(3). P. 189–220. doi: 10.1017/S0033583514000031
- Johnstone R. W., Ruefli A. A., Tainton K. M., Smyth M. J. A role for P-glycoprotein in regulating cell death. *Leukemia Lymphoma.* 2000a. Vol. 38. P. 1–11. doi: 10.3109/10428190009060314
- Johnstone R. W., Ruefli A. A., Smyth M. J. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem. Sci.* 2000b. Vol. 25. P. 1–6.
- Juliano R. L., Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta.* 1976. Vol. 455. P. 152–162. PMID: 990323
- Kerr I. D. Structure and association of ATP-binding cassette transporter nucleotide-binding domains. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1561. P. 47–64. PMID: 11988180
- Kispal G., Csere P., Guiard B., Lill R. The ABC transporter Atm1p is required for mitochondrial iron homeostasis. *FEBS Lett.* 1997. Vol. 418. P. 346–350. PMID: 9428742
- Kusuhara H., Sugiyama Y. Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 1). *Drug Disc. Today.* 2001. Vol. 6. P. 150–156. PMID: 11165188
- Mosser J., Douar A. M., Sarde C. O., Kioschis P., Feil R., Moser H., Poustka A. M., Mandel J. L., Aubourg P. Putative X-lined adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature.* 1993. Vol. 361. P. 726–730. doi: 10.1038/361726a0
- Lamer M. H., Winterwerp H. H., Sixma T. K. The alternating ATPase domains of MutS control DNA mismatch repair. *EMBO J.* 2003. Vol. 22. P. 746–756. doi: 10.1093/emboj/cdg064
- Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap. *Protein Sci.* 2002. Vol. 11. P. 1285–1299.
- Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap. *Protein Sci.* 2002. Vol. 11(6). P. 1285–1299. doi: 10.1110/ps.0201402
- Löscher W., Potschka H. Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family. *NeuroRx.* 2005. Vol. 2. P. 86–98. doi: 10.1602/neurorx.2.1.86
- Locher K. P. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2009. Vol. 364(1514). P. 239–245.
- Loo T. W., Clarke D. M. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein. *Biochem. Cell Biol.* 1999. Vol. 77. P. 11–23. PMID: 10426282
- Mao Q., Unadkat J. D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J.* 2005. Vol. 7. P. E118–133. doi: 10.1208/aapsj070112
- Martin C., Berridge G., Mistry P., Higgins C., Charlton P., Callaghan R. Drug binding sites on P-glycoprotein are altered by ATP binding prior to nucleotide hydrolysis. *Biochemistry.* 2000. Vol. 39. P. 11901–11906. PMID: 11009602
- Natarajan K., Xie Y., Baer M. R., Ross D. D. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance. *Biochem. Pharmacol.* 2012. Vol. 83. P. 1084–1103. doi: 10.1016/j.bcp.2012.01.002
- Ni Z., Bikadi Z., Rosenberg M. F., Mao Q. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Curr. Drug Metab.* 2010. Vol. 11. P. 603–617. PMID: 20812902
- Orelle C., Ayyaz T., Everly R. M., Klu C. S., Davidson A. L. Both maltose-binding protein and ATP are required for nucleotide-binding domain closure

in the intact maltose ABC transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. P. 12837–12842. doi: 10.1073/pnas.0803799105

Oswald C., Holland I. B., Schmitt L. The motor domains of ABC-transporters. What can structures tell us. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol*. 2006. Vol. 372. P. 385–399. doi: 10.1007/s00210-005-0031-4

Pahnke J., Fröhlich C., Krohn M., Schumacher T., Paarmann K. Impaired mitochondrial energy production and ABC transporter function-A crucial interconnection in dementing proteopathies of the brain. *Mech. Ageing Dev*. 2013. Vol. 134(10). P. 506–515. doi: 10.1016/j.mad

Smith P. C., Karpowich N., Millen L., Moody J. E., Rosen J., Thomas P. J., Hunt J. F. ATP binding to the motor domain from an ABC transporter drives formation of a nucleotide sandwich dimer. *Mol. Cell*. 2002. Vol. 10. P. 139–149.

Stacy A. E., Jansson P. J., Richardson D. R. Molecular pharmacology of ABCG2 and its role in chemoresistance. *Mol. Pharmacol*. 2013. Vol. 84. P. 655–669. doi: 10.1124/mol.113.088609

Stieger B., Meier P. J. Bile acid and xenobiotic transporters in liver. *Curr. Opin. Cell Biol*. 1998. Vol. 10. P. 462–467. PMID: 9719866

Szakács G., Váradi A., Özvegy-Laczka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discovery Today*. Vol. 13, no. 9/10. P. 279–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Theodoulou F. L., Kerr I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem. Soc. Trans*. 2015. Vol. 43. P. 1033–1040. doi: 10.1042/BST20150139

van Veen H. W., Margolles A., Muller M., Higgins C. F., Konings W. N. The homodimeric ATP-binding cassette transporter LmrA mediates multidrug transport by an alternating two-site (two-cylinder engine) mechanism. *EMBO J*. 2000. Vol. 19. P. 2503–2514. doi: 10.1093/emboj/19.11.2503

Wang H., Lee E. W., Cai X., Ni Z., Zhou L., Mao Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence. *Biochemistry*. 2008. Vol. 47. P. 13778–13787. doi: 10.1021/bi801644v

Yang Z., Zhu W., Gao S., Yin T., Jiang W., Hu M. Breast cancer resistance protein (ABCG2) determines distribution of genistein phase II metabolites: reevaluation of the roles of ABCG2 in the disposition of genistein. *Drug Metab. Dispos*. 2012. Vol. 40. P. 1883–1893. doi: 10.1124/dmd.111.043901

Zaitseva J., Oswald C., Jumpertz T., Jenewein S., Wiedenmann A., Holland I. B., Schmitt L. A structural analysis of asymmetry required for catalytic activity of an ABC-ATPase domain dimer. *EMBO J*. 2006. Vol. 25. P. 3432–3443. doi: 10.1038/sj.emboj.7601208

Zhou Z., Wang X., Liu H. Y., Zou X., Li M., Hwang T. C. The two ATP binding sites of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) play distinct roles in gating kinetics and energetic. *J. Gen. Physiol*. 2006. Vol. 128. P. 413–422. doi: 10.1085/jgp.200609622

Zolnerciks J. K., Andress E. J., Nicolaou M., Linton K. J. Structure of ABC transporters. *Essays Biochem*. 2011. Vol. 50. P. 43–61. doi: 10.1042/BSE0500043

Received April 02, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: levps@rambler.ru
тел.: +79212263211

CONTRIBUTOR:

Smirnov, Lev

Institute of Biology, Karelian Research Centre
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: levps@rambler.ru
tel.: +79212263211