

УДК 577.152.344

СТРУКТУРНО-ВИДОВІ ОСОБЛИВОСТІ КАЛЬПАЇНІВ ЯК ОСНОВА ЇХ КЛАСИФІКАЦІЇ

Гребіник Д.М.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка
 Україна, 03022, м. Київ-022, проспект Академіка Глушкова, 2
 grebinik@yahoo.com

Надійшла до редакції 14.10.2012

Розглянуто загальну характеристику та історію вивчення родини кальпаїнів. Систематизовано сучасні дані щодо будови і активації цих ферментів, а також основи класифікації «класичних» та «некласичних» форм кальпаїнів за структурою та видовим поширенням. Охарактеризовано аспекти специфічності експресії кальпаїнів у різних типах клітин.

Ключові слова: кальпаїн, кальпастатин, кальцій, кальцій-залежна цистеїнова протеаза.

ВСТУП

Кальпаїни відомі людству вже майже півстоліття, однак нові особливості їх структури та функціонування виявляються досьогодні. І хоча велика кількість отриманих даних дозволила більш детально охарактеризувати значимість функціонування цих універсальних ферментів для життєдіяльності різних типів клітин, однак у області вивчення кальпаїнів існує ще багато невідомого. Тому у даному огляді зроблено спробу узагальнити та систематизувати відомі на сьогодні аспекти доменної будови та структурної і видової класифікації представників родини кальпаїнів. Особливу увагу приділено характеристиці структури та поширення «некласичної» підродини цих ферментів.

Загальна характеристика та історія вивчення. Кальпаїни (КФ 3.4.22.17) – це родина внутрішньоклітинних кальцій-залежних цистеїнових протеїназ - пептидгідролазних ферментів, що розщеплюють пептидний зв'язок за рахунок залишку цистеїну у активному центрі. Кальпаїни виявляються у клітинах майже усіх еукаріот, а також декільох родин бактерій, у архебактерій взагалі відсутні [26, 27]. Протеолітична активність цих ферментів, на відміну від інших видів протеаз, лімітована розщепленням одного-двох пептидних зв'язків у молекулі білку-мішені. Тому вважається, що кальпаїни здатні лише до обмеженого протеолізу субстратів для модуляції активності останніх. Отже, ці ферменти є не деградаційними, а скоріше,

«модулюючими» протеазами, які приймають участь у широкому спектрі сигнальних шляхів – від процесів виживання та морфогенезу до запрограмованої загибелі клітин [6, 13, 15, 17, 18, 29]. У геномі ссавців на сьогодні відкрито 15 груп генів, що забезпечують експресію кальпаїнів і позначаються як CAPN з номерами від 1 до 16 (крім четвертого). Ці гени кодують відповідні форми як основного протеазного домену CysPc, так і додаткових регуляторних і функціональних регіонів молекули [26].

Перший з родини кальпаїнів був описаний ще в 1964 році Гуровим з колегами [8], а в очищеній гомогенній формі його отримали в 1978 році, і назвали активованою кальцієм нейтральною протеазою CANP (calcium activated neutral protease) [9]. У 1984 році з використанням кДНК було визначено повну первинну структуру каталітичної субодниниці у складі CANP [23]. Саме з цього часу центральною ідеєю у вивченні кальпаїнів стало співвіднесення даних про структуру цих білків з визначенням їх функціональної ролі. Шляхом генетичного клонування було отримано цілу низку форм кальпаїнів та споріднених молекул, послідовно ідентифіковано всі гени CAPN. Зокрема, було виявлено, що два гени кодують малі регуляторні субодниниці ферменту - CAPNS1 та CAPNS2, а ще один, CAST, дає початок власному ендегенному білковому інгібітору кальпаїнів – кальпастатину [27].

Кальпаїни є складно регульованими цитозольними ферментами, активність яких проявляється за нейтрального рН і залежить від присутності певної концентрації вільного кальцію. Ще однією

особливістю цих протеаз є їх відносна функціональна незалежність від убіквітину та інших білкових факторів, порівняно з протеасомними комплексами, протеазами лізосом та автофагосом - катепсинами, або апоптичними каспазами [26].

Важливість функціональної ролі кальпаїнів для функціонування клітин ссавців підтверджується численними патологіями, які виникають за умов порушення механізмів регуляції експресії та/або активності цих ферментів. До списку входять ембріональна летальність, м'язеві дистрофії, гастропатії, лісенцефалії, онкогенез, помилки нейрогенезу, статевої детермінації, дефекти росту та диференціації клітин [13, 15, 29].

Спорідненість та видове поширення кальпаїнів.

Найбільш вивченими на сьогодні членами родини кальпаїнів є μ - та m -кальпаїни. Перші активуються мікромолярними, другі – мілімолярними концентраціями вільного цитозольного кальцію [27]. Широко розповсюджені представники цих двох груп, наприклад, m -кальпаїн курей CAPN11, вважаються «класичними», в той час, як інші зустрічаються не так часто, тому відносяться до «некласичних».

Кальпаїни належать до суперродини цистеїнових протеаз папаїнового типу, завдяки чому і отримали свою назву (кальпаїн – «кальцій залежний папаїн»). За структурою та специфічністю дії ці ферменти дійсно нагадують папаїни та цистеїнові катепсини лізосом. Спорідненість за структурою визначається схожістю амінокислотних послідовностей у основному протеолітичному домені CysPc, який присутній у всіх цих ферментах. За цією ознакою їх іноді об'єднують у родину CysPc, до якої, таким чином, належать всі відомі на сьогодні 15 видів кальпаїнів – продуктів відповідних генів людини [26, 27].

Кількість форм кальпаїнів різниться в залежності від організму. Наприклад, нематода *Caenorhabditis elegans* має 14 видів цього ферменту, москити і трематоди - по 7 видів, дрозофіла – 4, гриби-аскомицети *Aspergillus nidulans* – 2, *Arabidopsis thaliana* та дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* – лише по одному виду [27]. Існують організми, наприклад мікроспоридії роду *Encerphalitozoon* або дріжджі *Schizosaccharomyces pombe*, в яких взагалі немає генів кальпаїнів.

Щодо прокаріотичних організмів, то сьогодні гени кальпаїнів виявлені у 42 видах еубактерій, причому у кожному з цих видів може бути одночасно до 4 різних ферментів даної родини. Варто відмітити, що у 96% секвенсованих геномів різних видів бактерій, включаючи *Escherichia coli* та архебактерій, генів цих ензимів не знайдено [27].

Особливості структури та механізму активації.

Встановлено, що «класичні» μ - та m -кальпаїни ссавців є гетеродимерами, що складаються з двох типів субодиниць: малої регуляторної масою 30 кДа - CAPN1/30K, та великої каталітичної масою 80 кДа - CAPN1/mCL або CAPN2/mCL. Каталітичні субодиниці CAPN1/mCL та CAPN2/mCL людини є

ідентичними за первинною структурою на 62%, і характеризуються ідентичною специфічністю до субстратів та інгібіторів. Основна різниця полягає у тому, що перший тип субодиниць набуває каталітичної активності за мікромолярного діапазону цитозольної концентрації Ca^{2+} , а другий – за мілімолярного [13, 28].

Виявлено, каталітичні субодиниці кальпаїнів мають у своєму складі 4 основні домени та N-термінальна ділянку – так званий якірний регіон у вигляді α -спіралі. Серед доменів ближче до якірної α -спіралі розташовані PC1 та PC2 - протеазні корові регіони (CysPc). Ближче до C-кінця молекули розміщуються два інших домени – C2 або C2L (або подібний до консервативного регіону 2 протеїнкінази C) та PEF (penta EF-hand, що містять 5 мотивів структури «EF-рук»). Регуляторні субодиниці містять 2 домени: гліцин-збагачений гідрофобний регіон GR та субдомени PEF(L) або PEF(S). [28, 29]. Таким чином, структуру усієї молекули кальпаїнів можна розділити на 6 доменів, які раніше позначалися римськими цифрами (від I до IV – велика субодиниця, V та VI – мала)

За умов кальцій-залежної активації кальпаїнів якірний α -спіральний фрагмент аутокаталітично відщеплюється. Це може призвести до зростання активності ферменту за нижчого рівня Ca^{2+} , зміни субстратної специфічності, або навіть до дисоціації субодиниць. Загалом, автолітичне відщеплення якірного регіону являє собою приклад внутрішнього регуляторного механізму, необхідного для підвищення та модуляції ферментативної активності [27].

Встановлено, що ізолюваний коровий домен CysPc m -кальпаїну володіє Ca^{2+} -залежною протеазною активністю [19]. За умов відсутності катіону домени PC1 та PC2 (які раніше називалися протеазами D-I та D-II або субдоменами Pa і Pb відповідно) у складі каталітичної субодиниці кальпаїну знаходяться у неактивній конформації. PC1 та PC2 активуються лише за умови приєднання до них по одному йону кальцію на кожен домен у місці зв'язування катіону - CBS-1 та CBS-2 відповідно [15, 28]. Таким чином, приєднання кальцію переводить структуру кальпаїну у активну форму, що є важливим фактором регуляції даного ферменту

Відомо, що можливим є приєднання кальцію до C2L, який раніше називався доменом III, а також до регіонів PEF(L) та PEF(S) – доменів IV та VI, які знаходяться у каталітичній та регуляторній субодиницях відповідно. П'ята «EF-рука» (EF-5) у складі PEF-доменів, як вважається, приймає участь у формуванні гетеродимерів кальпаїнів. Цікаво, що N-термінальна якірна α -спіраль неактивного m -кальпаїну може контактувати з мотивом EF-2 у складі PEF(S). Таким чином, вважається, що додатковим фактором активації даних ферментів є втрата контакту EF-2 з якірним α -спіральним фрагментом під час аутокаталітичного відщеплення останнього [21].

Встановлено також, що N-термінальний гліцин-збагачений домен GR (домен V) у складі CAPN1/30K містить гідрофобні «гліцинові кластери», які також піддаються автогідролізу під час активації кальпаїнів [27, 28].

Основи структурної класифікації. За принципом доменної структури родина кальпаїнів, як уже відмічалось, поділяється на дві основні підродини. Кальпаїни, ідентичні за складом доменів до CAPN1/mCL та CAPN2/mCL входять до підродини «класичних», вони містять регіони CysPc, C2L та PEF [4]. Раніше цю підродину називали «типовими» кальпаїнами, але це виявилось недоречним, оскільки дані ферменти є нетиповими за поширенням у живому світі – вони зустрічаються лише у шистосом, комах та більшості хребетних. У свою чергу підродина «некласичних» кальпаїнів не мають у своєму складі ні C2L-, ні PEF-регіонів. Загалом, з 15 видів кальпаїнів 9 входять до «класичної» підродини - CAPN1/mCL], CAPN2/mCL, CAPN3/p94, CAPN8/nCL-2, CAPN9/nCL-4, CAPN11, CAPN12, CAPN13 та CAPN14, а 6 видів є «некласичними» - CAPN7/PalBH, CAPN5/hTRA-3, CAPN6, CAPN10, CAPN15/SOLH та CAPN16/demi-calpain [26, 28].

Встановлено, що людина має повний набір «класичних кальпаїнів», який є майже ідентичним до такого у інших хребетних [16]. В той же час, у безхребетних організмах було знайдено лише декілька видів «класичних» кальпаїнів – наприклад, чотири види у *Schistosoma mansoni*, по три – у дрозофіли та москіта *Anopheles gambiae*. Нарешті, у трипаносомах, нематодах *C. elegans*, дріжджах *S. cerevisiae*, багатоклітинних грибах та рослинах взагалі не виявлено жодного з «класичних» кальпаїнів [27].

Структура і класифікація «некласичних» кальпаїнів. Встановлено, що регіони CysPc у складі «некласичних» кальпаїнів різних організмів мають 30-75% гомології первинної структури доменів. Деякі з них, наприклад, трансмембранний регіон TM, домен «цинкових пальців» Zn або ділянка взаємодії з мікротрубочками MIT, не зустрічаються у «класичних» кальпаїнах. Тому припускають, що «некласичні» кальпаїни, на відміну від «класичних», функціонують по-іншому, до того ж не всі з перших є кальцій-залежними. Саме на цьому припущенні ґрунтується гіпотеза про початок формування родини кальпаїнів за рахунок злиття гену-попередника, кодуючого класичну цистеїнову протеазу, з іншими генами білків різної функціональності [16,27].

«Некласичні» кальпаїни, які є більш різноманітними за доменною структурою у порівнянні з «класичними», додатково ділять на 5 груп: PalB (містять домен MIT), SOL (мають N-термінальний регіон «цинкових пальців» та C-термінальний домен SOH), DEK1 (містять трансмембранний домен TM), бактеріальні кальпаїни (не мають ділянок C2/C2L) та демі-кальпаїни (містять лише один з доменів PC у складі CysPc) [26, 28].

Найбільш розповсюдженим серед «некласичних» кальпаїнів є CAPN7/PalBH, його гомологи були знайдені у хребетних, дріжджах, грибах, комах (крім дрозофіли), нематодах, протистах, але у рослинах він відсутній. Як правило, CAPN7/PalBH має 2 тандемно розташовані ділянки C2L, які структурно значно відрізняються від відповідних регіонів «класичних» кальпаїнів, та консервативний домен MIT на N-кінці молекули, що відповідає за взаємодію з мікротрубочками та транспорт кальпаїну цитозолем [25].

CAPN10 людини, який виділяють у окрему підгрупу кальпаїну 10, є найдовшим сплайсинговим варіантом відповідного гену і також містить тандем C2L у C-термінальному регіоні, але не має MIT. Гомологи даного білку знайдено лише у хребетних організмах [2].

У групі PalB також виділяють підгрупу TRA-3. У неї входить відповідний кальпаїн, який було виявлено у нематодах та хребетних, але він відсутній у комах та нижчих тварин [27]. Встановлено, що гомологами TRA-3 у людини є CAPN5/hTRA-3 та CAPN6, вони містять по одному домену C2L та C2 у C-термінальному регіоні [20]. Таким чином, група PalB включає 3 підгрупи – власне PalB, TRA-3 та підгрупу кальпаїну 10.

SOL-кальпаїни відносяться до другої еволюційно-консервативної групи, представники якої зустрічаються у хребетних, комах, нематодах, зелених водоростях, але не у дріжджах та інших грибах. Назва SOL походить від аббревіатури кодуючого відповідну протеазу гену дрозофіли (small optic lobes). Мутації у даному гені призводять до відсутності певних типів нейронів оптичних долей мозку дрозофіли. Відповідно, ріст і розвиток цих клітин є залежними від протеазної активності продукту цього гену, що був ідентифікований як перший кальпаїн з групи SOL [5]. Основними структурними особливостями цієї групи ферментів є присутність N-термінального домену у вигляді «цинкових пальців» та C-термінального консервативного регіону SOH [27, 28].

Специфічний кальпаїн рослин, фітокальпаїн, був вперше ідентифікований у 2001 році, в клітинах цукрової тростини *Saccharum officinarum* [3]. Через рік в кукурудзі було виявлено його гомолог, кальпаїн DEK1 (defective kernel 1), який приймав участь у розвитку алевронних клітин рослини [14]. Таким чином третя група DEK1 об'єднує в собі, в основному, рослинні форми «некласичних» кальпаїнів. Дані ферменти містять у своєму складі N-термінальний трансмембранний регіон TM та лише один C-термінальний домен C2L. Серед тварин повні гомологи DEK1 були знайдені лише у *Tetrahymena thermophila*. Часткову гомологію з рослинними кальпаїнами мають CAPN10:ex1-8|9B|10/calpain-10b людини та *Drosophila*CALPA' – сплайсингові варіанти продуктів генів CAPN10 та CalpA, відповідно, а також деякі з кальпаїнів структури CysPc-C2L-COOH,

виділені з нематод. Але жоден з цих ферментів не містить домену ТМ [27]. За цими ознаками всі вищезгадані форми кальпаїнів зведені у групу DEK1.

Бактеріальні форми «некласичних» кальпаїнів вперше були ідентифіковані у 1992 році у бактеріях виду *Porphyromonas gingivalis*, як тіолові протеази – так звані білки *trp* [1]. Дана четверта група підродини «некласичних» кальпаїнів є структурно найбільш дивергентною, маючи гомологію лише за основним доменом CysPc [4].

Нарешті, п'ятою групою «некласичних кальпаїнів» є так звані демі-кальпаїни. Ці ферменти характеризуються присутністю у молекулі лише одного з двох основних регіонів домену CysPc – PC1, або PC2, і не містять інших ділянок [4]. На разі структура та функції даної групи ферментів до кінця не встановлені.

Клінічна специфічність. Окрім структурної класифікації, кальпаїни розрізняють також і за поширенням у тканинах та органах. Більшість генів кальпаїнів людини, а саме -CAPN1, CAPN2, CAPN5, CAPN7, CAPN10, CAPN13, CAPN14, CAPN16, CAPNS1 та CAPNS2, експресуються у всіх клітинах організму. Експресія ж інших є специфічною до виду тканини та клітин. Наприклад, CAPN3 є ексклюзивним для скелетних м'язів, кришталіка і рогівки ока, CAPN6 виявляється у ембріональних м'язах і плаценті, CAPN8 та CAPN9 – експресується у клітинах слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, CAPN11 – у яечках, а CAPN12 – у волосяних фолікулах [28]. Цей факт дозволив припустити, що загально-експресовані кальпаїни відіграють фундаментальну роль у клітинах, в той час як ексклюзивні для певного типу клітин форми цих ферментів є функціонально-специфічними.

До того ж, недостатність продукції «загальних» кальпаїнів (приміром, продуктів гену CAPNS1 або CAPN2), як правило, летальна, або є причиною особливо важких порушень [7, 10]. Разом з тим, дефекти утворення та регуляції тканинно-специфічних ензимів можуть призводити до специфічних симптомів. Наприклад, мутації гену CAPN3 або дефекти його продукту є однією з причин м'язево-дистрофічного синдрому [12, 24].

В той же час відомо, що за певних патологій, таких як вже згадана м'язева дистрофія, а також кардіоміопатії, травматичні ішемії, лізенцефалії, та інші, як правило спостерігається надлишкова активація майже всіх форм «класичних» кальпаїнів. Очевидно, це є наслідком порушення гомеостазу вільного клітинного кальцію, яке спостерігається за розвитку вищенаведених патологічних станів [13, 15, 26, 29]. Тому одним з перспективних підходів терапії даних хвороб є використання різноманітних інгібіторів кальпаїнів. Серед них AK275 та MDL28170 використовують для полегшення наслідків ішемії мозкової та серцевої тканини відповідно, а у якості нейпротекторів наразі тестуються PD150606, SJA6017, AVT-705253 та SNJ-1945 [11, 22, 30].

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Отже, на сьогоднішній день за допомогою біохімічних, молекулярно-біологічних та генетичних підходів виявлено і охарактеризовано 15 видів різноманітних за структурою та функціями ферментів, що об'єднуються у родину кальпаїнів та зустрічаються у всіх видах організмів. Однак, наукові дослідження, присвячені структурі та функціям кальпаїнів, ще далекі до завершення. Наприклад, до кінця не зв'язовані точні молекулярні механізми участі кальпаїнів у сигнальній трансдукції та інших клітинних процесах, їх роль у активації ферментів та білкових факторів для досягнення певних біохімічних та фізіологічних ефектів. У даному відношенні особливо перспективним для майбутніх досліджень є поєднання біохімічних та генетичних підходів, що вже дозволило встановити причетність кальпаїнів до багатьох клітинних ефектів та біологічних феноменів. Зокрема, вдалося виявити взаємозв'язки між численними дефектами генів кальпаїнів та біохімічними наслідками цих дефектів на рівні клітини. Враховуючи велику кількість даних, отриманих з досліджень на клітинах організмів, яким властива експресія того чи іншого виду кальпаїну, можна припустити, що ці ензими відіграють модулюючу роль у багатьох процесах фізіологічної та/або стресорної природи. Якщо ж прийняти до уваги увесь спектр фізіологічних та біохімічних механізмів, до регуляції яких залучені кальпаїни, можна стверджувати, що наступні відкриття у вивченні структури та функцій цих ферментів обов'язково матимуть значний вплив на уявлення у багатьох областях біологічної науки.

Література

1. Bourgeau G., Lapointe H., Peloquin P., et al. Cloning, expression, and sequencing of a pro-tease gene (*trp*) from *Porphyromonas gingivalis* W83 in *Escherichia coli* // *Infect. Immun.* – 1992. – Vol. 60. – P. 3186-3192.
2. Cheverud J.M., Fawcett G.L., Jarvis J.P., et al. Calpain-10 is a component of the obesity-related quantitative trait locus *Adip1* // *J. Lipid Res.* -2010. –Vol. 51. – P. 907-913
3. Correa G.C., Margis-Pinheiro M., Margis, R. Identification, classification and expression pat-tern analysis of sugarcane cysteine proteinases // *Genet. Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 24. – P. 275-283.
4. Croall D.E., Ersfeld K. The calpains: modular designs and functional diversity // *Genome Biol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 218-225.
5. Delaney S.J., Hayward D.C., Barleben F., et al. Molecular cloning and analysis of small optic lobes, a structural brain gene of *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1991.- Vol. 88. – P. 7214-7218.
6. Demarchi F., Cataldo F., Bertol, C., et al. DNA damage response links calpain to cellular senescence // *Cell Cycle.* - 2010. – Vol. 9.- P. 755-760.
7. Dutt P., Croall D.E., Arthur S.C., et al. m-Calpain is required for preimplantation embryonic de-velopment in mice // *BMC Dev. Biol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 3-12

8. *Guroff G.* A neutral calcium-activated proteinase from the soluble fraction of rat brain // *J. Biol. Chem.* – 1964.- Vol. 239. – P. 149-155.
9. *Ishiura S., Murofushi H., Suzuki K., et al.* Studies of a calcium-activated neutral protease from chicken skeletal muscle. I. Purification and characterization // *J. Biochem.* – 1978. – Vol. 84. – P. 225-230.
10. *Kashiwagi A., Schipani E., Fein M.J., et al.* Targeted deletion of *Capn4* in cells of the chondrocyte lineage impairs chondrocyte proliferation and differentiation // *Mol. Cell. Biol.* – 2010. – Vol. 30. – P. 2799-2810.
11. *Koumura A., Nonaka Y., Hyakkoku K., et al.* A novel calpain inhibitor, ((1S)-1((((1S)-1-benzyl-3-cyclopropylamino-2,3-dioxopropyl)amino)carbonyl)-3-methylbutyl)-carbamic acid 5-methoxy-3-oxapentyl ester, protects neuronal cells from cerebral ischemia-induced damage in mice // *Neuroscience.* – 2008. – Vol. 157, №2. – P. 309–318.
12. *Kramerova I., Kudryashova E., Tidball J.G., et al.* Null mutation of calpain 3 (p94) in mice causes abnormal sarcomere formation in vivo and in vitro // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13. – P. 1373-1388.
13. *Letavernier E., Zafrani L., Perez J., et al.* The role of calpains in myocardial remodelling and heart failure // *Cardiovasc Res.* – 2012.- Vol. 96.- P. 38 – 45.
14. *Lid S.E., Gruis D., Jung R., et al.* The defective kernel 1 (dek1) gene required for aleurone cell development in the endo-sperm of maize grains encodes a membrane protein of the calpain gene superfamily // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99. – P. 5460-5465.
15. *Liu J., Liu M. C., Wang K. K. W.* Calpain in the CNS: From Synaptic Function to Neurotoxicity // *Sci. Signal.* – 2008. – Vol. 1.- re1.
16. *Macqueen D.J., Delbridge M.L., Manthri S., et al.* A newly classified vertebrate cal-pain protease, directly ancestral to CAPN1 and 2, epi-sodically evolved a restricted physiological function in placental mammals // *Mol. Biol. Evol.* – 2010. – Vol. 27. – P. 1886-1902.
17. *Mellgren R.L., Miyake K., Kramerova I., et al.* Calcium-dependent plasma membrane repair requires m- or mu-calpain, but not calpain-3, the proteasome, or caspases // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009.- Vol. 1793.- P. 1886-1893.
18. *Mellgren R.L., Zhang W., Miyake K., et al.* Calpain is required for the rapid, calcium-dependent repair of wounded plasma membrane // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 2567-2575.
19. *Moldoveanu T., Hosfield C.M., Lim D., et al.* Calpain silencing by a reversible in-trinsic mechanism // *Nat. Struct. Biol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 371-378.
20. *Nakada S., Tsuneyama K., Kato I., et al.* Identification of candidate genes involved in endogenous protection mechanisms against acute pancreatitis in mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 391. – P. 1342-1347.
21. *Nakagawa K., Masumoto H., Sorimachi H., et al.* Dissociation of m-calpain subunits occurs after autolysis of the N-terminus of the catalytic subunit, and is not required for activation // *J. Biochem.* – 2004. – Vol. 130. – P. 605-611.
22. *Nimmrich V., Reymann K.G., Strassburger M., et al.* Inhibition of calpain prevents NMDA-induced cell death and beta-amyloid-induced synaptic dysfunction in hippocampal slice cultures // *Br. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 159, №7. – P. 1523–1531.
23. *Ohno S., Emori Y., Imajoh S., et al.* Evolutionary origin of a calcium-dependent protease by fusion of genes for a thiol protease and a calcium-binding protein // *Nature.* – 1984. – Vol. 312. – P. 566-570.
24. *Ojima K., Kawabata Y., Nakao H., et al.* Dynamic distribution of muscle-specific calpain in mice has a key role in physical-stress adaptation and is impaired in muscular dystrophy // *J. Clin. Invest.* – 2010. – Vol. 120. – P. 2672-2683.
25. *Osako Y., Maemoto Y., Tanaka R., et al.* Autolytic activity of human calpain 7 is enhanced by ESCRT-III-related protein IST1 through MIT-MIM interaction // *FEBS J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 4412-4426.
26. *Smith M. A., Schnellmann R. G.* Calpains, mitochondria, and apoptosis // *Cardiovasc. Res.* – 2012.- Vol. 96. - P. 32 - 37.
27. *Sorimachi H., Hata S., Ono Y.* Calpain chronicle - an enzyme family under multidisciplinary characterization // *Proc. Jpn. Acad Ser B Phys Biol. Sci.* – 2011. – Vol. 87.- P. 287-327.
28. *Sorimachi H., Hata S., Ono Y.* Impact of genetic insights into calpain biology // *J. Biochem.* – 2011. – Vol. 150. – P. 23 - 37.
29. *Sorimachi H., Ono Y.* Regulation and physiological roles of the calpain system in muscular disorders // *Cardiovasc Res.* – 2012. – Vol. 96. – P. 11 – 22
30. *Yamada M., Yoshida Y., Mori D., et al.* Inhibition of calpain increases LIS1 expression and partially rescues in vivo phenotypes in a mouse model of lissencephaly // *Nat. Med.* – 2009. – Vol. 15. – P. 1202-1207.

СТРУКТУРНО-ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ КАЛЬПАИНОВ КАК ОСНОВА ИХ КЛАССИФИКАЦИИ

Гребиник Д.М.

Рассмотрены общая характеристика и история изучения семейства кальпаинов. Систематизированы современные данные касательно строения и активации этих ферментов, а также основы классификации «классических» и «неклассических» форм кальпаинов по структуре и видовому распространению. Охарактеризованы аспекты специфичности экспрессии кальпаинов в разных типах клеток.

Ключевые слова: кальпаин, кальпастатин, кальций, кальций-зависимая цистеиновая протеаза.

CALPAIN STRUCTURAL AND DISTRIBUTIONAL FEATURES AS THEIR CLASSIFICATION BASIS

Dmytro Grebinyk

The calpain family main characteristics and research history are presented. The current data about the composition and activation of these enzymes, as well as the classification basis of conventional and non-conventional calpain forms according to the structure and distribution among species, are systematized. The aspects of calpain cell specificity expression are characterized.

Key words: calpain, calpastatin, calcium, calcium-dependent cysteine protease.