



УДК 577.112.016.7:576.347

## ИМПОРТ БЕЛКОВ В МИТОХОНДРИИ

© 2000 г. Л. Г. Зайцева, Т. В. Овчинникова, В. А. Гринкевич\*#

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;**\*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биоорганической химии, 119899, Москва, Воробьевы горы*

Поступила в редакцию 13.03.2000 г. Принята к печати 10.04.2000 г.

Обзор посвящен импорту процессируемых белков-предшественников в матрикс митохондрий, обсуждается также и импорт белков-переносчиков во внутреннюю мембрану митохондрий. В обзоре рассмотрены пост- и котрансляционные теории импорта, закономерности строения пресиквенсов, влияние цитозольных факторов на импорт белков-предшественников; суммированы данные по строению транслоказ белков-предшественников внешней (ТОМ-комплекс) и внутренней (ТИМ-комплекс) мембран митохондрий и обсуждены существующие модели импорта белков-предшественников этими транслоказами.

*Ключевые слова:* импорт белка; митохондрии, транслоказы белков-предшественников митохондрий; ТОМ-комплекс; ТИМ-комплекс.

## ВВЕДЕНИЕ

Митохондрии – органеллы, присутствующие почти во всех эукариотических клетках. Наиважнейшая функция митохондрий – синтез АТФ, сопряженный с окислительным фосфорилированием.

Митохондрия состоит из четырех субкомпартов: внешней мембраны, проницаемой для небольших (меньше 10 кДа) молекул и ионов; внутренней мембраны, которая непроницаема для большинства ионов, и образует регулярные складчатые структуры (кристы); межмембранного пространства, расположенного между этими двумя мембранами, и матрикса. В матриксе находятся митохондриальная кольцевая ДНК и компоненты, необходимые для транскрипции и трансляции белков, кодируемых митохондриальным геномом. Митохондриальный генетический код кодирует несколько собственных рРНК и тРНК, а также некоторые белки дыхательной цепи и АТФ-азы. В зависимости от вида организма белков, кодиру-

емых в митохондриях, может быть от 8 до 16. Как правило, все эти белки высокогидрофобны и локализованы на внутренней мембране митохондрий со стороны матрикса. В целом же рост и функционирование митохондрий невозможны без импорта белков, кодируемых ядерным геномом и синтезированных на цитоплазматических рибосомах (так называемых белков-предшественников, в англоязычной литературе “preproteins” или “precursors”).

Импорт кодируемых ядерным геномом белков в митохондрии – сложный мультистадийный процесс (см. обзоры [1–4]). Наряду с основным направлением импорта белков – в матрикс митохондрий – существуют пути импорта белков в другие митохондриальные субкомпарменты. В данном обзоре в основном будет рассмотрен импорт белков-предшественников в матрикс митохондрий.

КО- И ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ ТЕОРИИ  
ИМПОРТА КОДИРУЕМЫХ ЯДЕРНЫМ  
ГЕНОМОМ БЕЛКОВ В МИТОХОНДРИИ

В настоящее время существуют две основные теории транслокации предшественников кодируемых ядерным геномом белков в митохондрии: ко- и посттрансляционная.

Согласно **посттрансляционной теории**, связывание белков и включение их в мембрану митохондрий происходит только после окончания процесса их синтеза. Белок-предшественник отделяется от полисомы и лишь после этого импортируется в митохондрию. По мнению Нойперта с соавт., этот механизм является доминирующим [5].

Сокращения: ТОМ-комплекс и ТИМ-комплекс – транслоказа белков-предшественников внешней и внутренней мембраны митохондрий соответственно; GIP – основная пара включения; MSF – митохондриальный импортстимулирующий фактор; PBF – пресиквенсвязывающий фактор; TF – адресующий фактор; Hsp70 – цитоплазматический белок теплового шока 70; mtHsp70 – митохондриальный белок теплового шока 70; MGE – митохондриальный шаперон (гомолог GtrE); MPP – митохондриальная матриксная пептидаза процессинга; MIP – митохондриальная промежуточная пептидаза процессинга;  $\beta$ -F<sub>1</sub>ATP-аза –  $\beta$ -субъединица H<sup>+</sup>-F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>ATP-азы; CoxIV – субъединица IV цитохром-с-оксидазы;  $\Delta\psi$  – трансмембранная разность электрохимических потенциалов.

# Автор для переписки (тел.: (095) 939-12-68; факс: (095) 336-43-33; e-mail: grin@soil.msu.ru).

Подтверждающими эту теорию могут служить следующие результаты исследований:

1) показано существование цитоплазматического пула белков-предшественников, находящихся в солюбилизированной форме, в клетках и сферопластах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [6], клетках *Neurospora crassa* [7] и нейронах головного мозга крысы [8];

2) белки, меченные в процессе их синтеза, обнаруживаются в митохондриях только спустя достаточно длительное время после начала биосинтеза [5–7];

3) кинетика появления в митохондриях белков-предшественников варьирует для разных белков [5, 7];

4) ингибирование синтеза ряда белков циклогексимидом не сопряжено по времени с прекращением их импорта в митохондрии [7, 9];

5) синтезированные *in vitro* белки-предшественники при добавлении их к изолированным митохондриям могут успешно импортироваться [5, 9, 10];

6) цитозольные белковые факторы, такие, как митохондриальный импортстимулирующий фактор (MSF) [11–13], пресиквенссвязывающий фактор (PBF) [12, 14], адресующий фактор (TF) [15, 16] и цитозольный шаперон Hsp70 [12, 17, 18] стимулируют импорт белков-предшественников.

Согласно **котрансляционной теории**, импорт белков происходит одновременно с их синтезом, т. е. в процессе элонгации. Вернер с соавт. считают именно этот механизм основным [19]. В качестве подтверждения котрансляционной теории ее сторонники приводят следующие наблюдения:

1) цитоплазматические 80S-рибосомы дрожжей тесно связаны с митохондриями, причем с теми участками их внешней мембраны, которые контактируют с внутренней мембраной [20];

2) только 1/3 рибосом, ассоциированных с митохондриями, удаляется обработкой раствором высокой ионной силы [21, 22];

3) связывание рибосом с митохондриями может иметь GTP-зависимый характер, сходный с таковым для SRP\*-зависимого котрансляционного импорта белков-предшественников в шероховатый эндоплазматический ретикулум [23];

4) для некоторых митохондриальных белков-предшественников, кодируемых ядерным геномом, показано, что основная часть их мРНК (60%) содержится именно в ассоциированных с митохондриями полисомах, доля которых составляет 12–18% от общего количества полисом в цитозоле [24];

5) импорт некоторых белков-предшественников, синтезирующихся *in vitro* в лизате клеток дрожжей в присутствии изолированных митохондрий, блокируется циклогексимидом [25]; *in vivo* также наблюдался этот эффект [26].

\* Сигналузнающая частица.

В последнее время считается, что в клетке могут реализовываться как ко-, так и посттрансляционная модели импорта [27, 28].

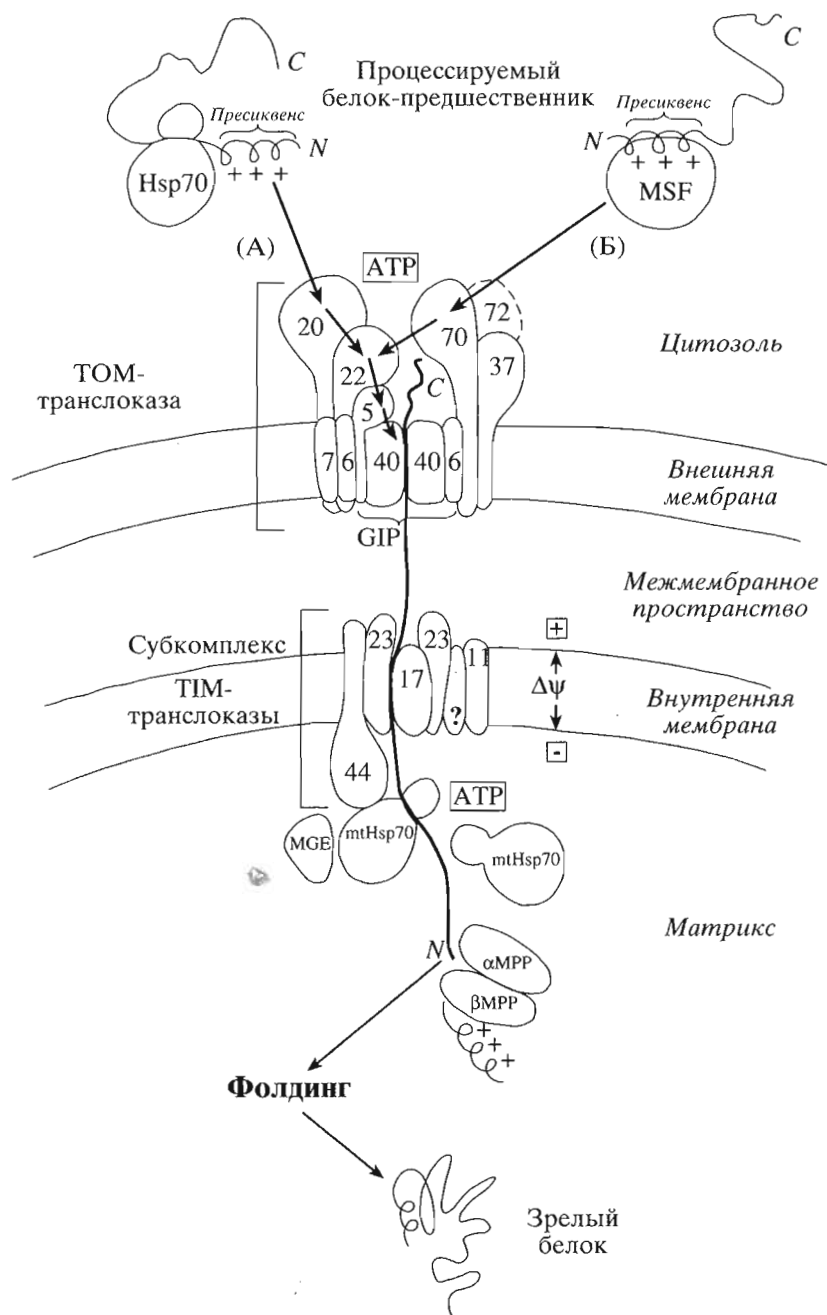
## СТРОЕНИЕ ПРЕСИКВЕНСОВ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

Большинство митохондриальных белков-предшественников, кодируемых ядерным геномом, имеют на N-конце добавочную последовательность (сигнальный, лидерный, целевой, адресующий пептид или пресиквенс (presequence)), которая в митохондрии удаляется специфическими пептидазами процессинга (рис. 1).

Протяженность пресиквенса варьирует в основном от 15 до 60 а.о. [5]. Пресиквенсы богаты остатками Ala (~14%), Arg (~14%), Ser (~11%) и Thr (у низших эукариот); мало представлены Asp, Glu, Ile, Lys и Pro [29–31]. Было показано, что изменения первичной структуры пресиквенса не играют критической роли до тех пор, пока сохраняется положительный заряд пептида и его способность формировать амфифильную структуру [30, 32].

Как правило, пресиквенсы состоят из двух доменов с разными амфифильными свойствами [29, 33]. N-Концевой домен способен образовывать амфифильную  $\alpha$ -спираль в подходящем окружении (кислые фосфолипиды и кардиолипин) [29, 30, 33–36]. Предполагается, что такая вторичная структура пресиквенса важна для специфического узнавания белками “импортной машины” митохондрий. Интересно отметить, что D-энантиомеры пресиквенса  $\beta$ -субъединицы F<sub>1</sub>ATP-азы митохондрий шпината импортируются также хорошо, как и L-энантиомеры (проф. Глазер Е., департамент биохимии Стокгольмского университета, персональное сообщение). В случае ряда пресиквенсов было показано, что для импорта соответствующего белка-предшественника существенны только амфифильные свойства лидерного пептида, а не его способность свертывания в  $\alpha$ -спиральную структуру [37], хотя следует отметить, что пресиквенсы ADP/ATP-транслокатора картофеля [31, 38] и белка табака, кодируемого геном *rip4* [39], не обладают амфифильной структурой, но вполне функциональны. Похоже, что значимость амфифильной  $\alpha$ -спирали для импорта различна для разных видов организмов. Так, недавно было показано, что наличие только  $\alpha$ -спирального амфифильного элемента в пресиквенсе альтернативной оксидазы бобов сои не обеспечивает эффективный импорт белка-предшественника в митохондрии бобов сои, но вполне достаточно для импорта в митохондрии крысы [40].

S-Концевой домен пресиквенса узнается пептидазами матрикса митохондрий и содержит специфические сайты расщепления. Фон Хейне с соавт., проанализировав первичную структуру



**Рис. 1.** Схема импорта процессируемых белков-предшественников, кодируемых ядерным геномом, в матрикс митохондрий (согласно [3]). Цифрами обозначены субъединицы TOM-комплекса и TIM-субкомплекса в соответствии с их молекулярными массами, знаком ? – возможные неидентифицированные компоненты TIM-комплекса. (А) – рецепция белка-предшественника субкомплексом Tom37–Tom70–Tom72; (Б) – рецепция белка-предшественника субкомплексом Tom20–Tom22.

большого числа пресиквенсов митохондриальных белков-предшественников, выделили несколько консервативных последовательностей, которые находятся в непосредственной близости от места расщепления пептидазами процессинга (табл. 1) [29, 36]. Наиболее консервативен мотив Arg –3. Последовательность Arg –2 узнается матриксной пептидазой процессинга (MPP, mitochondrial matrix processing peptidase) и митохондри-

альной промежуточной пептидазой (MIP, mitochondrial intermediate peptidase). Пресиквенс с последовательностью Arg –10 отщепляется, как правило, в два шага; в положении –8 обязательно находится гидрофобный остаток и отсутствует Arg –2 (или Arg –3) [41]. α-Спиральные элементы С-концевого домена пресиквенса также необходимы для узнавания MPP [42].

**Таблица 1.** Консервативные последовательности С-концевого домена пресиквенсов, содержащие специфические сайты расщепления белка-предшественника пептидазами процессинга [29, 36]

Обозначение мотива	Аминокислотная последовательность
Нет Arg	XXX↓XS
Arg -2	XRX↓XS
Arg -3	XRXY↓(S/A)
Arg -10	XRX↓(F/I/L)SXXXXXXXX↓X

X – любой аминокислотный остаток; ↓ – место расщепления пептидазами процессинга.

Многие предшественники мембранных белков митохондрий имеют сигнальные сайты и в зрелой части (обычно такими сайтами являются положительно заряженные сегменты), которые играют роль пресиквенса или дополняют его функцию (см. обзоры [2, 4]).

Есть данные, что сигнальный пептид, необходимый для осуществления импорта в митохондрии, может располагаться и на С-конце белка-предшественника, как, например, у ДНК-хеликазы *S. cerevisiae* [43]. Этот сигнальный пептид подобно классическому N-концевому пресиквенсу содержит ряд положительно заряженных аминокислотных остатков и потенциально может образовывать амфифильную α-спираль. Импорт предшественника ДНК-хеликазы в митохондрии происходит по направлению от С- к N-концу.

## ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИМПОРТ

Белки-предшественники, полученные трансляцией в бесклеточной системе зародышей пшеницы, импортируются в митохондрии с меньшей эффективностью, чем белки-предшественники, синтезированные в бесклеточной системе лизата ретикулоцитов кролика или экстракта дрожжевых клеток [2, 44]. Этот факт послужил толчком для поиска цитоплазматических факторов (практически отсутствующих в бесклеточной системе зародышей пшеницы), вовлеченных в процесс импорта белков в митохондрии. В результате экспериментальной работы они действительно были обнаружены (табл. 2).

Hsp70 принадлежит к семейству белков теплового шока и является эукариотическим гомологом бактериального белка DnaK. В присутствии Hsp70 усиливается импорт предшественников таких белков, как глюкокортикоидный рецептор, β-F<sub>1</sub>ATP-аза и некоторых других [17, 18, 45, 46]. *In vitro* было показано, что Hsp70 взаимодействует с пресиквенсами, причем эффективность связывания зависит от степени амфифильности сигнального пептида [47]. Hsp70 способен задерживать процесс сворачивания белка-предшественника и предотвращать его агрегацию, но не делает его импорткомпетентным [48]. Hsp70 функционален в присутствии белков, гомологичных DnaJ бактерий (кошаперонов Hsp70). Показано, например, что антитела к человеческому DnaJ-подобному белку HSDJ ингибируют импорт

**Таблица 2.** Цитоплазматические белковые факторы, влияющие на импорт ядерно-кодируемых белков-предшественников в митохондрии

Обозначение	Название	M, кДа	Субъединичный состав (M, кДа)	Функция	Литература
Hsp70	Белок теплового шока 70 (heat shock protein 70)	~70	Мономер	Молекулярный шаперон, поддержание импорткомпетентной конформации белка-предшественника	[12, 17, 18, 45, 46, 47, 48]
Ydj1 (Mas5), HSDJ	DnaJ-подобные белки	~45	Мономер	Кошаперон Hsp70, доставка комплекса белок-предшественник-Hsp70 к митохондрии	[49, 50, 51]
Mft52	Mitochondrial fusion target protein	~45	Мономер	Перенос белка-предшественника от рибосом к митохондриям	[52, 53, 54]
TF	Адресующий фактор (targeting factor)	28	Мономер	Стимуляция импорта, облегчение связывания белков-предшественников с поверхностью внешней мембраны митохондрий	[11, 15, 16]
PBF	Пресиквенсвязывающий фактор (presequence binding factor)	50*	Гомоолигомер (~360 кДа)	Кошаперон Hsp70, поддержание импорткомпетентной конформации белка-предшественника	[12, 14, 55]
MSF	Митохондриальный импортстимулирующий фактор (mitochondrial import stimulation factor)	30, 32*	Гетеродимер (~62 кДа)	Перенос белка-предшественника от рибосом к митохондриям, облегчение дезагрегации и разворачивания белков-предшественников	[11, 12, 13, 56]

\* Приведены молекулярные массы субъединиц.

орнитин-карбамоилтрансферазы в изолированные митохондрии [49]. DnaJ-подобный белок Ydj1 (Mas5) в дрожжах стимулирует высвобождение белков-предшественников из их комплекса с Hsp70 [50, 51]. Возможно, он также способствует доставке комплекса белок-предшественник-Hsp70 к поверхности внешней мембраны митохондрий, где Ydj1 может заякориваться при помощи своей преинильной группировки [2].

Некоторые цитозольные факторы специфически связываются с белками-предшественниками и доставляют их к рецепторным компонентам транслоказы внешней мембраны митохондрий. Так, вполне вероятно, что в дрожжевых клетках в инициации переноса белков-предшественников от рибосом к митохондриям участвует цитозольный белок Mft52 [52–54].

Адресующий фактор (TF), выделенный из цитозольной фракции клеток печени крысы [11, 15], не только стимулирует импорт белков-предшественников, но и облегчает связывание последних с поверхностью внешней мембраны митохондрий [16].

В цитозоле клеток печени, сердца крысы и в лизате ретикулоцитов кролика присутствует пресиквенс-связывающий фактор (PBF), стимулирующий импорт белков-предшественников в митохондрии [55]. PBF связывается с пресиквенсом белка-предшественника и не имеет родства к зрелой форме белка [14]. Интересно отметить, что влияние PBF значительно усиливается в присутствии белка Hsp70, причем в этом случае сам Hsp70 слабо воздействует на импорт. В свою очередь PBF оказывает DnaJ-подобное действие на Hsp70 [55]. Вероятно, основной функцией PBF является поддержание совместно с Hsp70 импорт-компетентной конформации белка-предшественника [2, 55].

Наиболее хорошо охарактеризован митохондриальный импорт-стимулирующий фактор (MSF), который был выделен из лизата ретикулоцитов кролика и клеток печени крысы [11]. MSF специфически узнает и формирует стабильный комплекс как с пресиквенсом, так и со зрелой частью белка-предшественника. Важную роль в этом взаимодействии играют положительно заряженные аминокислотные остатки пресиквенса. Предполагается, что MSF узнает и некоторые структурные элементы пресиквенса, вероятнее всего амфифильную  $\alpha$ -спираль [56]. MSF также облегчает дезагрегацию и разворачивание белков-предшественников [11, 13]. Связывание MSF с белком-предшественником ингибируется *N*-этил-малеимидом [11], а разворачивание белка-предшественника зависит от гидролиза АТФ, причем связывание MSF с белком-предшественником или пресиквенсом индуцирует АТФ-азную активность этого фактора [11, 13]. Вероятно, MSF выполняет также и функцию доставки белка-предшественника к митохондриям, так как комплекс

MSF-белок-предшественник специфично связывается с внешней мембраной митохондрий [13].

Необходимо отметить, что не все белки-предшественники нуждаются в присутствии цитозольных факторов для импорта. Так, предшественники Hsp60, цитохрома  $b_2$ , холоцитохром-*c*-синтазы и дигидрофолатредуктазы не связываются с цитозольными АТФ-зависимыми шаперонами [51, 57].

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ С ВНЕШНЕЙ МЕМБРАНОЙ МИТОХОНДРИЙ

Пресиквенсы предшественников некоторых белков (CoxIV и  $\beta$ -F<sub>1</sub>АТФ-азы) обладают способностью связываться с мембранами и липосомами, содержащими отрицательно заряженные фосфолипиды [32, 58–61]. Пресиквенс белка-предшественника CoxIV может индуцировать возникновение стабильных контактов между крупными моноламеллярными липосомами, состоящими из фосфолипидов (следует отметить важность присутствия кардиолипина) [61–65].

При связывании пресиквенса белка-предшественника CoxIV с липидным бислоем, содержащим кардиолипин, происходит резкое падение подвижности бислоя [66], а также повышается стабильность  $\alpha$ -спиральной структуры вокруг Pro13 и в *S*-концевой области пресиквенса [67], при этом *N*-концевая аминокислотная группа пресиквенса белка-предшественника CoxIV углубляется на 13 Å в мембрану. Таким образом, пресиквенс локализуется ниже границы раздела фаз [68].

Предполагается, что взаимодействие пресиквенса с фосфолипидами внешней мембраны митохондрий может выполнять несколько функций. Во-первых, так как кардиолипин в эукариотических клетках присутствует исключительно в мембранах митохондрий, то взаимодействие пресиквенса с бислоем, содержащим кардиолипин, может быть дополнительным условием правильного сортирования [65, 66]. Во-вторых, это взаимодействие может быть необходимо для приобретения белком-предшественником импорт-компетентной конформации [59, 64]. В-третьих, пресиквенс-фосфолипидное взаимодействие может играть роль в формировании участков транслокации между двумя митохондриальными мембранами, а также содействовать структурной перестройке белков внешней и внутренней мембраны митохондрий, входящих в состав “импортных машин” митохондрий [65].

Недавно впервые было сообщено о ковалентной модификации белка-предшественника, происходящей перед транслокацией его в матрикс митохондрий [69]. Авторы показали, что предшественник  $\beta$ -субъединицы АТФ-азы (pF<sub>1</sub> $\beta$ ) митохондрий *Nicotiana plumbaginifolia* ковалентно

### “ИМПОРТНЫЕ МАШИНЫ” МИТОХОНДРИЙ

модифицируется при связывании с внешней мембраной митохондрий высших растений. Модификация приводит к увеличению молекулярной массы предшественника на 2 кДа, и модифицированный белок тесно связывается с внешней мембраной. Сайт модификации находится в районе первых 25 а.о. пресиквенса. Для осуществления модификации необходимо присутствие АТР и ионов  $Ca^{2+}$ . Химическая природа этой модификации не установлена. Она катализируется ферментом, локализованным во внешней мембране митохондрий, однако этот фермент пока не идентифицирован. Авторы предположили, что возможная цель такой модификации – помещение доставленного белка-предшественника в режим транзита. Этот режим предполагает, что часть молекул белка  $rF_1\beta$ , доставленного к митохондриям, закоривается каким-то образом на внешней мембране до тех пор, пока не будет окончен импорт ранее доставленных молекул. Данная модификация характерна для митохондрий высших растений (листья шпината, кукурузы, клубни картофеля), где ей подвергаются от 20 до 60% молекул, связанных с внешней мембраной митохондрий белков-предшественников, и не наблюдается для митохондрий дрожжей, *Chlamidomonas reinhardtii* и млекопитающих [69, 70].

Обе мембраны митохондрий имеют “импортные машины” так называемые препротеин-транслоказы (транслоказы белков-предшественников). Транслоказы внешней (ТОМ-комплекс) и внутренней (ТИМ-комплекс) мембран митохондрий взаимодействуют в процессе импорта друг с другом, но могут также действовать независимо одна от другой [71]. Взаимодействие транслоказ в процессе импорта носит динамический характер, и полностью “импортная машина” (ТОМ–ТИМ-комплекс) образуется только в момент импорта белка-предшественника [72].

Обычно в процессе импорта белок-предшественник сшивает внешнюю и внутреннюю мембраны митохондрий. Это приводит к образованию так называемых транслокационных контактных сайтов (сайтов импорта), которые можно наблюдать при помощи электронного микроскопа [73]. Перспективным подходом для изучения и выделения функционального ТОМ–ТИМ-комплекса является связывание внешней и внутренней мембран митохондрий с помощью устойчивых промежуточных форм импортируемых белков [74, 75]. С использованием этого метода показано, что ТОМ-комплекс представлен во внешней мембра-

**Таблица 3.** Обобщенная номенклатура субъединиц транслоказ белков-предшественников митохондрий (по [76] с дополнениями)

Обозначения субъединиц	Названия, использовавшиеся до принятия общей номенклатуры	Литература
Субъединицы транслоказы внешней мембраны митохондрий		
Tom72	Tom71	[77]
Tom70	Mas70, Mom72, hTom34, OM37	[55, 78, 79]
Tom40	Isp42, Mom38	[80, 81]
Tom37	Mas37	[82]
Tom22	Mas17, Mas22, Mom22	[83, 84]
Tom20	Mas20, Mom19, Pom23, Rir16	[85, 86]
Tom7	Mom7	[80, 87]
Tom6	Isp6, Mom8b	[88, 87]
Tom5	Mom8, Mom8a	[89, 87]
Субъединицы транслоказы внутренней мембраны митохондрий		
Tim54		[90]
Tim44	Isp45, Mim44, Mpi1	[91, 92, 93]
Tim23	Mas6, Mim23, Mpi3	[94, 95]
Tim22		[96]
Tim17	Mim17, Mpi2, Sms1	[94, 97, 98]
Tim13		[99]
Tim12		[100, 101]
Tim11	SU $F_0F_1$ -АТР-азы	[102, 103]
Tim10		[101, 104]
Tim9		[104, 105]
Tim8		[99]

не митохондрий в большем количестве, чем ТИМ-комплекс во внутренней. Компоненты транслоказ, такие, как Tom40, Tim23 и Tim22, содержатся в мембранах в соотношении 5 : 1 : 0.22 [75].

Общая номенклатура для обозначения компонентов транслоказ белков-предшественников внешней и внутренней мембран митохондрий была введена сравнительно недавно [76]. Было предложено, что все компоненты транслоказы внешней мембраны митохондрий будут называться TomX, а компоненты транслоказы внутренней мембраны митохондрий – TimX, где X – относительная молекулярная масса белка, определенная при первом описании данной субъединицы (табл. 3).

### ТРАНСЛОКАЗА ВНЕШНЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ (ТОМ-КОМПЛЕКС)

#### Состав и стехиометрия ТОМ-комплекса

В настоящее время считается, что в состав ТОМ-комплекса *S. cerevisiae* и *N. crassa* входят девять белков внешней мембраны митохондрий: Tom20, Tom70, Tom72, Tom22, Tom37 (присутствие этой субъединицы в *N. crassa* спорно), Tom40, Tom6, Tom7 и Tom5 (рис. 1).

Tom20, Tom70 и Tom72 состоят из двух доменов: небольшого якорного N-концевого и цитоплазматического C-концевого (для Tom20 ~ 17 кДа, для Tom70 ~ 65 кДа) [2, 106, 107]. Tom72 обладает высоким сходством в первичной структуре с Tom70 (53% гомологии, 70% аналогии) и встраивается во внешнюю мембрану митохондрий в такой же ориентации [77]. Аналоги Tom70 в митохондриях млекопитающих – два белка (*M* ~ 34–37 кДа), обозначаемые как OM37 у крыс [78] и hTom34 у человека [79]. Tom70 имеет тенденцию к димеризации, наиболее важен для этого процесса  $\alpha$ -спиральный элемент якорного домена [108, 109]. Цитоплазматический домен белка Tom20 содержит много кислых аминокислотных остатков и обладает отрицательным зарядом [85, 110].

Белок Tom22 состоит из трех доменов: N-концевого (~85 а.о.), экспонированного в цитоплазму; трансмембранного домена и небольшого C-концевого (~45 а.о.), находящегося в межмембранном пространстве [83]. Цитозольный и межмембранный домены Tom22 имеют отрицательный заряд [107, 111].

Tom37 включает цитоплазматический домен и предположительно два коротких трансмембранных сегмента [82].

Компоненты ТОМ-комплекса расположены в мембране недалеко друг от друга. В случае дрожжей могут быть кросс-сшиты и коиммунопреципитированы Tom20 и Tom70, причем наблюдалось взаимодействие как трансмембранных, так и цитоплазматических доменов этих белков [112].

В *N. crassa* белок Tom22 может быть кросс-сшит с Tom70 [113] и Tom20 [114]. Tom37 образует комплекс с Tom70 в соотношении 1 : 1. Эти два компонента ТОМ-комплекса могут быть сольубилизованы как гетеродимер [82, 115]. Большинство этих взаимодействий неустойчиво и наблюдается только при сольубилизации мембран мягкими детергентами, например дигитонином [116]. Tom37 и Tom20 содержат по одному тетратрикопептидному мотиву (TPR-мотив, tetratricopeptide repeats), тогда как Tom70 и Tom72 содержат по семь TPR-мотивов. Вероятно, TPR-мотивы могут быть вовлечены во взаимодействие компонентов ТОМ-комплекса между собой [86, 107, 111, 117, 118].

Основная часть мембранного белка Tom40 глубоко погружена во внешнюю мембрану митохондрий, но один небольшой отрицательно заряженный домен экспонирован в межмембранное пространство [27, 107]. Вероятно, Tom40 способен образовывать  $\beta$ -складчатую структуру, схожую с таковой для митохондриальных и бактериальных поринов [119].

Более низкомолекулярные компоненты ТОМ-комплекса были обнаружены методом коиммунопреципитации с Tom20 и Tom40 [2, 27, 120]. Tom6 является интегральным протеолипидом (61 а.о.). Его N-концевой домен экспонирован в цитоплазму [88]. Tom7 также интегральный мембранный белок [120]. Tom5 состоит из двух доменов: C-концевого мембранного и N-концевого цитоплазматического, обладающего отрицательным зарядом [89].

При помощи электрофореза в нативных условиях ТОМ-комплекс дрожжей может быть выделен как комплекс с *M* 550–600 кДа, который легко диссоциирует на субкомплексы 400 и 120 кДа. 120-кДа-субкомплекс был охарактеризован как Tom70–Tom37-рецептор [121].

ТОМ-комплекс *N. crassa* тоже был выделен и охарактеризован [122]. Он также имеет *M* ~ 500–600 кДа, но после диссоциации в его составе не были обнаружены Tom37 и Tom6.

В разных источниках приводятся разные соотношения субъединиц, входящих в функциональный ТОМ-комплекс. Так, встречаются данные, что он может содержать 0–1.5 Tom70, 0.5–2 Tom20, 4–8 Tom40, 3–6 Tom22 [121–123].

При исследовании структуры выделенного и реконструированного в липидные везикулы ТОМ-комплекса *N. crassa* с помощью компьютерного анализа фотографий, сделанных с помощью электронного микроскопа, было обнаружено, что 40% комплекса находится в виде триплета кольцевых структур, диаметр которых приблизительно 138 Å, а диаметр каждой поры 20 Å [122]. По-видимому, выделяемый комплекс с *M* 500–600 кДа и является этой триплетной структурой.

В митохондриях картофеля TOM-комплекс, выделяемый с помощью электрофореза в нативных условиях, имеет меньшую молекулярную массу – 230 кДа, и в нем отсутствуют Tom22 и Tom37. Белок с  $M \sim 70$  кДа (вероятно, аналог Tom70) оказался более тесно ассоциирован с основной порой включения (GIP), чем в *S. cerevisiae* и *N. crassa*. TOM-комплекс митохондрий картофеля содержит не три, а четыре низкомолекулярные субъединицы, одна из которых была идентифицирована как Tom7 [80].

Поскольку, как было показано в работе [122], TOM-комплекс может присутствовать также в виде дублетных и синглетных (очень редко) кольцевых структур, можно предположить, что в случае TOM-комплекса митохондрий картофеля уменьшение массы обусловлено димеризацией, а не тримеризацией GIP. Возможно, присутствие/отсутствие Tom22 в комплексе может влиять на процесс тримеризации/димеризации GIP [122, 124].

#### Рецепторные компоненты TOM-комплекса

Рецепторную функцию для белков-предшественников в TOM-комплексе осуществляют два субкомплекса: Tom20–Tom22 (который узнает большинство белков-предшественников) и Tom70–Tom72–Tom37 (который, возможно, участвует в начальной стадии узнавания, а также является рецептором для комплекса MSF–белок-предшественник).

*Tom20–Tom22-субкомплекс.* Антитела к Tom20 и Tom22 в дрожжах и в *N. crassa* ингибируют импорт большинства белков-предшественников в митохондрии, за исключением некоторых непротестируемых белков-предшественников (в данном случае предшественником называется не полностью свернутый белок) [51, 85]. Делеция (в *S. cerevisiae*) или деплеция (в *N. crassa*) гена, кодирующего Tom20, приводит к нарушению строения крист митохондрий, вызывает временное угнетение дыхания и ингибирует импорт процессируемых белков-предшественников [118, 125, 126]. В то же время делеция или деплеция гена *tom20* не оказывает влияния на импорт АТФ/ADP-транслокатора, переносчика фосфата и цитохрома  $c_1$  [118, 126]. Отсутствие в клетках Tom20 может компенсироваться сверхпродукцией Tom70 [125].

Делеция гена, кодирующего Tom22, летальна для клеток дрожжей [84, 127]. Суперпродукция Tom22 уменьшает угнетение дыхания в клетках с делецией гена *tom20* [84].

Показано, что белки Tom20 и Tom22 способны связываться с белками-предшественниками [114, 128]. Изолированные цитоплазматические домены белков Tom20 и Tom22 также связываются с процессируемыми белками-предшественниками или их пресиквенсами [129]. Отрицательно заря-

женные цитоплазматические домены субъединиц Tom20 и Tom22 формируют главный структурный элемент *цис*-сайта TOM-комплекса, важного для начального этапа узнавания и связывания пресиквенсов белков-предшественников на внешней мембране митохондрий [27, 130]. Нойперт с соавт. показали, что замена от 2 до 15 (из имеющихся 19) отрицательно заряженных аминокислотных остатков цитоплазматического домена белка Tom22 на нейтральные не влияет на эффективность связывания и импорта белков-предшественников митохондриями мутантных штаммов *N. crassa*. Делеция отрицательно заряженного участка цитоплазматического домена субъединицы Tom22 также не оказывает влияния на импорт. Но в то же время делеция всего этого домена ингибировала импорт. Видимо, для связывания и импорта белков-предшественников отрицательный заряд цитоплазматического домена Tom22 не критичен, однако другие свойства этого домена важны для нормального функционирования Tom20–Tom22-рецепторного субкомплекса [131].

Связь белков-предшественников с *цис*-сайтом TOM-комплекса лабильна и уменьшается в среде с высокой ионной силой [47, 128]. Вероятнее всего, эта связь образуется за счет электростатического взаимодействия кислых аминокислотных остатков цитоплазматического домена белка Tom20 с положительно заряженной амфифильной  $\alpha$ -спиралью пресиквенса [80, 132] и гидрофобного взаимодействия цитоплазматического домена белка Tom22 с С-концевым участком пресиквенса и N-концевым фрагментом зрелой части белка-предшественника [129]. Неустойчивый характер связи белков-предшественников с *цис*-сайтом может быть важен для осуществления дальнейшего включения пресиквенса в транслокационную пору [132].

Систематический анализ связывания цитоплазматических доменов рецепторов TOM-комплекса с линейными пептидными последовательностями (длиной в 13 а.о.) процессируемого предшественника CoxIV и непротестируемого предшественника переносчика фосфата был выполнен в лаборатории Пфаннера [133]. Показано, что цитоплазматический домен белка Tom20 преимущественно связывает сегменты пресиквенса CoxIV, а домен субъединицы Tom22 – сегменты С-концевого участка пресиквенса и N-концевого участка зрелого белка. В случае переносчика фосфата домен Tom20, но не Tom22, связывал различные пептидные сегменты (как положительно заряженные, так и незаряженные), локализованные внутри молекулы белка-переносчика, но не связывал пептиды из N-концевой части.

*Tom70–Tom72–Tom37-субкомплекс.* Делеция гена, кодирующего Tom70 в дрожжах, не вызывает потерю их жизнеспособности, но в случае од-



новременной делеции гена *tom20* летальна [125]. Антитела к Tom70 частично ингибируют импорт белков в митохондрии, а их смесь с антителами к Tom20 ингибирует его полностью [51]. Tom70 ускоряет импорт некоторых предшественников митохондриальных белков (цитохрома  $c_1$ ,  $\beta$ -F<sub>1</sub>ATP-азы, ADP/ATP-транслокатора), но играет незначительную роль в переносе цитохрома  $b_1$ , холоцитохром-с-оксидазы и искусственных белков-предшественников, содержащих дигидрофолатредуктазу [51, 134]. Изолированный цитоплазматический домен белка Tom70 связывается с непротессуруемыми белками-предшественниками (сигнал импорта которых находится в зрелой части) и не способен связываться с пресиквенсами [129, 133]. В отсутствие Tom70 импорт белков-предшественников в митохондрии *in vitro* начинается с рецепции Tom20–Tom22-субкомплексом [125].

Делеция гена, кодирующего Tom72, почти не оказывает влияния на рост дрожжевых клеток [85]. *In vitro* показано участие Tom72 в импорте некоторых белков-предшественников, но его функция не идентична функции Tom70 и пока не совсем ясна [77].

В отсутствие Tom37 рост клеток становится температурочувствительным; ингибируется импорт ADP/ATP-транслокатора и денатурированного предшественника альдегиддегидрогеназы, импорт дигидрофолатредуктазы и Hsp60 не нарушается. Фенотип таких мутантных клеток очень похож на фенотип клеток с делецией *tom70* или *tom72*. Двойные мутанты *tom37Δ* с *tom70Δ* или с *tom20Δ* нежизнеспособны [82]. Специфичность Tom37 к белкам-предшественникам аналогична таковой для Tom70 [115]. Возможно, Tom37 вовлекается в связывание комплекса MSF–белок-предшественник, так как непосредственное взаимодействие Tom37 с белками-предшественниками не было показано.

#### Компоненты основной поры включения (GIP)

Показано, что белки-предшественники, использующие различные рецепторные системы, транслоцируются затем через общий канал во внешней мембране митохондрий. Наиболее вероятным кандидатом на роль основного компонента GIP является Tom40. Tom40 может быть кросс-шит с белками-предшественниками, когда они пересекают внешнюю мембрану митохондрий [81]. Первичная последовательность Tom40 высококонсервативна и его наличие существенно для роста клеток [51, 135]. Вероятно, в функциональной GIP Tom40 присутствует в виде димера или тримера [122].

При сольубилизации мембран мягкими детергентами Tom40 может выделяться совместно с тремя низкомолекулярными белками – Tom5,

Tom6 и Tom7 [120]. Tom40 может быть коиммуно-преципитирован с Tom6 [88]. Делеция гена *tom6* блокирует импорт белков-предшественников, уменьшает стабильность их связывания с рецептором и импортным каналом, вызывает дестабилизацию взаимодействия импортного канала и рецепторных субкомплексов [87]. Одновременная делеция генов *tom6* и *tom40* летальна для клетки [88]. Вероятно, Tom6 стабилизирует взаимодействие рецепторов с порой GIP [87, 120]. В отсутствие Tom7 стабилизируется взаимодействие между субкомплексом Tom20–Tom22 и Tom40. Это указывает на то, что Tom7 обладает дестабилизирующим эффектом на ТОМ-комплекс. Таким образом, Tom7 и Tom6 участвуют в модуляции динамики транслоказы внешней мембраны митохондрий [120]. Предполагается также, что Tom7 может принимать участие в сортировке белков во внешнюю мембрану митохондрий [27].

Белок Tom5 в отличие от Tom7 и Tom6 не играет роли в процессе ассоциации/диссоциации ТОМ-комплекса. Tom5 может быть кросс-шит как с протессуруемыми, так и с непротессуруемыми белками-предшественниками в процессе импорта. Tom5 осуществляет функциональную связь между поверхностными рецепторами (Tom20–Tom22- и Tom70–Tom72–Tom37-субкомплексы) и компонентами GIP (Tom40). Будучи отрицательно заряженным цитоплазматический домен субъединицы Tom5 может взаимодействовать с пресиквенсом или положительно заряженными внутренними доменами белков-предшественников и помогать их переносу с рецепторов к поре и их включению в GIP [89].

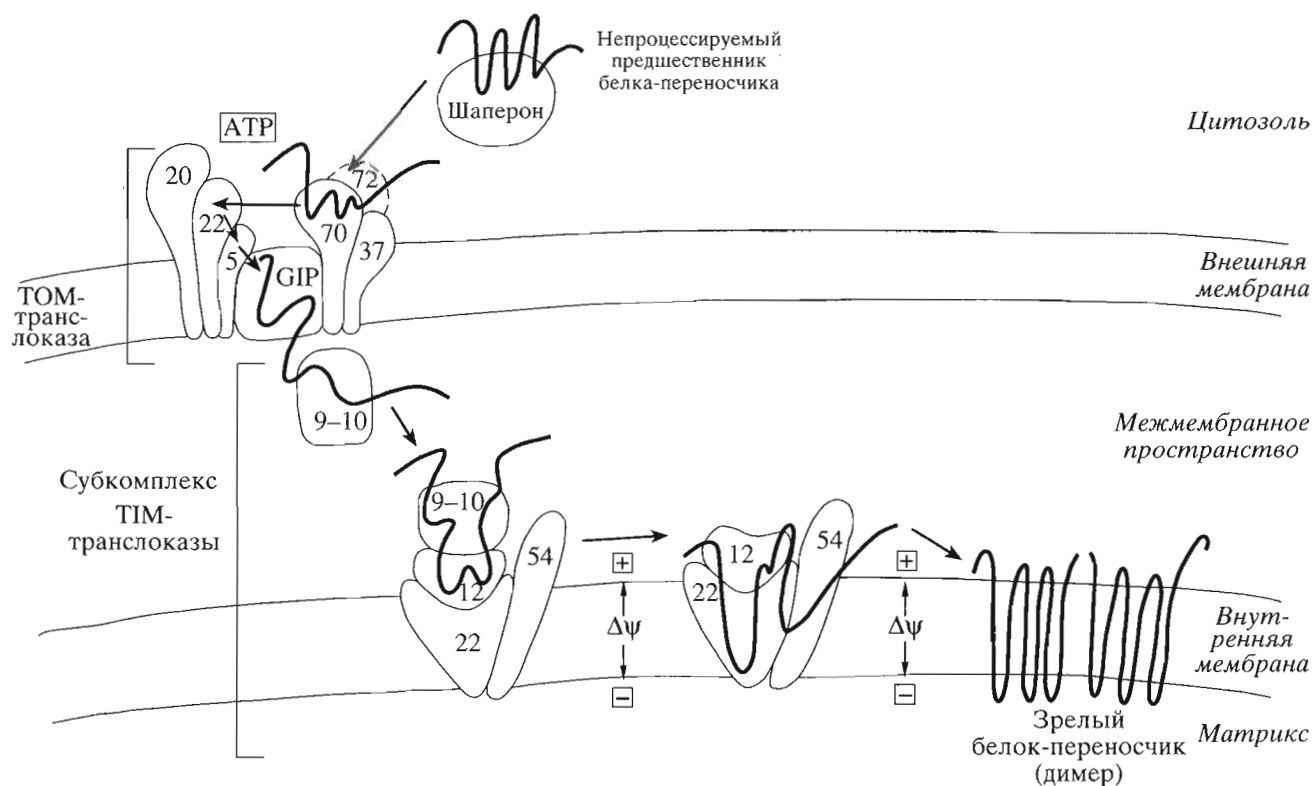
### ТРАНСЛОКАЗА ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ (ТИМ-КОМПЛЕКС)

#### Состав и строение ТИМ-комплекса

В отличие от ТОМ-комплекса, включающего только белки внешней мембраны митохондрий, к ТИМ-комплексу относят помимо шести белков внутренней мембраны митохондрий (Tim23, Tim17, Tim11, Tim44, Tim22 и Tim54) пять белков межмембранного пространства (Tim8, Tim9, Tim10, Tim12 и Tim13) и два белка матрикса митохондрий (митохондриальный Hsp70 (mtHsp70, Ssc1p) и MGE (Mge1p, mGrpE, Ygelpp)). Функционально ТИМ-комплекс подразделяется на два субкомплекса (см. рис. 1 и рис. 2).

Tim23 [94, 95], Tim17 [97, 98] Tim22 [96] и Tim54 [90] являются интегральными белками внутренней мембраны митохондрий.

N-Концевой домен белка Tim23, несущий кластер кислых аминокислотных остатков, экспонирован в межмембранное пространство. С-Концевая часть белка гидрофобна и содержит предпо-



**Рис. 2.** Схема импорта непротессированных предшественников белков-переносчиков, кодируемых ядерным геномом, во внутреннюю мембрану митохондрий (согласно [136]). Цифрами обозначены субъединицы рецепторных субкомплексов TOM-транслоказы, а также Tim22–Tim54-субкомплекса, и белки межмембранного пространства TIM-транслоказы в соответствии с их молекулярными массами. GPI – основная пора включения.

ложительно четыре трансмембранных участка [95, 137].

Белок Tim17 гомологичен гидрофобной части Tim23, вероятно, сходно с ним ориентирован в мембране, но не имеет гидрофильного домена [94, 95, 97, 98, 137]. Первичная структура Tim17 более консервативна, чем у других субъединиц TOM- или TIM-комплексов [138].

C-Концевая последовательность Tim22 гомологична последовательностям трансмембранных сегментов Tim23 и Tim17 [96].

Белок Tim11 состоит из N-концевой гидрофобной части и C-концевого гидрофильного сегмента, возможно, локализованного в межмембранном пространстве [102]. Интересно отметить, что за исключением C-концевого участка первичная аминокислотная последовательность Tim11 гомологична последовательности e-субъединицы  $H^+$ - $F_0F_1$ -АТФ-азы митохондрий млекопитающих [103]. Tim11 может быть кросс-сшит с белками-предшественниками внутренней мембраны митохондрий и межмембранного пространства [3, 102]. Функция этого белка в TIM-комплексе окончательно не выяснена.

Tim44 – гидрофильный белок [91], он ассоциирован с внутренней мембраной митохондрий и лег-

ко экстрагируется в щелочных условиях. Это указывает на то, что он не является классическим интегральным мембранным белком [92, 93, 139]. C-Концевой домен Tim44 экспонирован в межмембранное пространство [91], в то время как основная часть этого легко диссоциирующего от мембраны белка находится в матриксе митохондрий [2, 140].

Tim23 и Tim17 формируют субкомплекс в соотношении 1 : 1 [140, 141] или 2 : 2 [142]. Этот субкомплекс стабилен при добавлении мягких детергентов (например, дигитонина), но не при солиubilизации мембран октилглюкозидом или Тритон X-100. Tim44 ассоциирован с Tim23–Tim17-субкомплексом, но связь между ними очень лабильна [141].

Tim22 может быть коиммунопреципитирован с Tim54. Tim22 и Tim54 не взаимодействуют ни с Tim23, ни с Tim17. Tim22 выделяется в составе высокомолекулярного (300 кДа) субкомплекса, отличного от Tim23–Tim17-субкомплекса [90, 96]. Таким образом, мембранные компоненты TIM-комплекса можно подразделить на два субкомплекса: Tim23–Tim17~Tim44 и Tim22–Tim54 (см. рис. 1 и рис. 2).

Митохондриальный белок Hsp70 (mtHsp70) принадлежит к большому семейству DnaK/Hsp70-подобных белков. Помимо дрожжей, где он кодируется геном *ssc1*, mtHsp70 был обнаружен и в других организмах [143]. MtHsp70 локализован в основном в матриксе, но приблизительно 10% находится в комплексе с Tim44 [139, 144]. Ассоциация/диссоциация комплекса mtHsp70 с TIM-комплексом регулируется нуклеотидами.

MGE – гидрофильный белок матрикса митохондрий, являющийся гомологом бактериального белка GrpE [145, 146]. MGE специфически взаимодействует с mtHsp70 [147, 148] и функционирует как фактор, вызывающий высвобождение нуклеотидов из комплекса с mtHsp70 [148].

Недавно было показано участие белков межмембранного пространства Tim8, Tim9, Tim10, Tim12 и Tim13 в процессе импорта непротранслируемых предшественников белков-переносчиков внутренней мембраны митохондрий [99, 100, 101, 104]. Эти компоненты TIM-комплекса обладают сходной первичной структурой. Каждый белок содержит мотивы цинковых пальцев с четырьмя остатками цистеина и связывает эквивалентное количество  $Zn^{2+}$ . Взаимодействие Tim8, Tim9, Tim10, Tim12 и Tim13 с белками-предшественниками зависит от присутствия ионов двухвалентных металлов [99, 101, 104].

#### *Транслокационный канал внутренней мембраны митохондрий*

Tim23 и Tim17 – наиболее подходящие кандидаты на роль компонентов транслокационного канала внутренней мембраны митохондрий. Участие Tim44 в образовании канала подвергается сомнению. Tim23 и Tim17 могут быть кросс-сшиты с белками-предшественниками в процессе импорта последних [137, 140, 141, 149]. Мутации в генах, кодирующих Tim17 и Tim23, летальны для клеток. Сверхпродукция Tim17 снимает летальный эффект *tim23*-мутации [98, 150]. Tim23 и Tim17 могут быть кросс-сшиты в интактных митохондриях [150].

Tim23 образует димеры при наличии трансмембранного потенциала  $\Delta\psi$ . Возможность димеризации Tim23 определяется наличием *N*-концевого гидрофильного домена. Вторая половина этого домена содержит мотив “лейциновой застежки”, который, вероятно, и принимает участие в образовании димера. *C*-Концевой гидрофобный сегмент не участвует в ассоциации двух молекул Tim23 [150, 151]. Связывание Tim23 с пресиквенсом приводит к диссоциации димера и конформационным изменениям, открывающим транслокационный канал. Диаметр транслокационного канала TIM-комплекса неизвестен, одна-

ко он, видимо, меньше, чем диаметр канала GIP TOM-комплекса [152].

Таким образом, Tim23 играет роль рецептора белков-предшественников на внутренней мембране митохондрий (отрицательно заряженный *N*-концевой домен) [151, 153], а также части  $\Delta\psi$ -зависимого транслокационного канала [151]. Последнее хорошо объясняет роль  $\Delta\psi$  в импорте белков в митохондрии. Вероятно,  $\Delta\psi$  в основном необходим для воротного (открыть/закрыть) эффекта на транслокационный канал, тогда как эффект однонаправленного электрофоретического включения положительно заряженного пресиквенса в матрикс вносит дополнительную функцию [2, 154].

#### *Tim44 как связующее звено между транслокационным каналом и mtHsp70 (рис. 1)*

Tim44 контактирует с Tim23 и Tim17 [140]. Он находится в непосредственной близости от белка-предшественника в момент транслокации последнего [93, 139, 144] и взаимодействует с ним не только на ранних, но и на поздних стадиях импорта [139]. Вероятно, Tim44 формирует димеры [139].

Основная функция Tim44 – связывание mtHsp70, необходимого не только для сворачивания белков в матриксе митохондрий, но и для транслокации белков-предшественников [143, 155–158]. Tim44 связывает mtHsp70 в непосредственной близости от транслокационного канала, что обеспечивает протягивание белка-предшественника через TOM-TIM-комплекс [139, 144, 159, 160].

Взаимодействие Tim44 с mtHsp70 имеет динамический характер. Наблюдается циклическое связывание/высвобождение mtHsp70 из комплекса mtHsp70–Tim44, регулируемое гидролизом АТФ [139, 144, 160, 161]. Фактор нуклеотидного обмена MGE также способен регулировать взаимодействие mtHsp70 с Tim44 [148, 162]. Мутация в гене, кодирующем MGE, вызывает ухудшение кинетических параметров и эффективности импорта, нарушение связывания mtHsp70 с белками-предшественниками и АТФ-зависимой диссоциации комплекса mtHsp70 с Tim44 [162]. В присутствии MGE комплекс mtHsp70–Tim44 стабилен с негидролизруемыми аналогами АТФ и диссоциирует в присутствии ADP. Вероятно, mtHsp70–АТФ-комплекс ассоциирует с Tim44, а mtHsp70–ADP-комплекс диссоциирует от него [132, 163]. Хотя фон Асен с соавт. считают, что для диссоциации mtHsp70–Tim44-комплекса необходимо связывание АТФ, а не его гидролиз [161].

По мнению Бомера с соавт., Tim44 не является существенным структурным компонентом канала импорта, так как его инактивация в митохондриях *S. cerevisiae* ингибирует импорт лишь на 30%

и не влияет на количество сайтов импорта. Однако, если белок-предшественник содержит плотно свернутые домены, функциональность Tim44 критична для процесса импорта. Авторы предполагают, что Tim44 играет специализированную роль в транслокации белков с трудно разворачиваемыми доменами, в отличие от mtHsp70, который необходим для импорта белков-предшественников, содержащих как трудно, так и легко разворачиваемые домены [164].

Недавно было показано, что в некоторых случаях mtHsp70 может непосредственно ассоциировать с Tim17. Это взаимодействие функционально, так как сверхпродукция mtHsp70 подавляет дефект импорта, вызванный мутацией гена *tim17* [165].

#### Роль Tim22–Tim54-субкомплекса и белков межмембранного пространства (рис. 2)

Tim22 и Tim54 ассоциированы во внутренней мембране митохондрий [90]. В мутантных *tim22Δ*-клетках ингибируется импорт ADP/АТР-транслокатора и фосфатного переносчика, но не нарушается импорт процессируемых белков-предшественников [96]. *Tim54Δ*-мутация вызывает нарушения в росте клеток, которые могут быть устранены сверхпродукцией Tim22, но не Tim23 или Tim17 [90]. Вероятнее всего, Tim22–Tim54-субкомплекс осуществляет импорт и включение белков-переносчиков во внутреннюю мембрану митохондрий.

В этом процессе принимают участие также белки межмембранного пространства. Необходимо отметить, что гены *tim10* и *tim12* критичны для жизнеспособности клеток *S. cerevisiae* [136]. Эти белки способны связываться с непроецируемыми предшественниками белков-переносчиков внутренней мембраны митохондрий [101]. Причем “цинковые пальцы” Tim10 и Tim12 комплементарно узнают так называемую “подпись переносчика” – консервативные элементы в последовательности, повторяющиеся трижды во всех белках семейства белков-переносчиков [101]. Tim10 и Tim12 формируют комплексы с Tim22. Tim10 легко диссоциирует от Tim22 и важен для переноса белков через внешнюю мембрану митохондрий. Tim12 тесно ассоциирован с Tim22 и модулирует включение предшественников ADP/АТР-транслокатора и переносчика фосфата во внутреннюю мембрану митохондрий [100]. Вероятно, Tim10 и Tim12 функционируют в межмембранном пространстве как шапероны для гидрофобных белков внутренней мембраны [100]. В межмембранном пространстве эти три белка формируют два типа комплексов с  $M \sim 70$  кДа. В состав комплексов первого типа (Tim9–Tim10) входят 3–4 субъединицы Tim9 и 2–3 субъединицы Tim10. Комплекс второго типа (Tim9–Tim10–

Tim12) состоит из 3–4 субъединиц Tim9, 2 субъединиц Tim10 и 1 субъединицы Tim12. Последний комплекс присутствует в эквимольном количестве с Tim22 и тесно ассоциирован с мембраной. Оба этих комплекса задействованы в импорте белков во внешнюю мембрану митохондрий [105]. В межмембранном пространстве присутствует также третий вид комплекса с  $M \sim 70$  кДа (Tim8–Tim13), состоящий из 3 субъединиц Tim8 и 3 субъединиц Tim13. Точная роль этого комплекса не ясна [99].

### МОДЕЛЬ ИМПОРТА БЕЛКОВ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ТОМ-КОМПЛЕКСОМ

На внешней мембране митохондрий дрожжей присутствуют два рецепторных субкомплекса (Tom20–Tom22 и Tom70–Tom72–Tom37), участвующих в узнавании митохондриальных белков-предшественников (рис. 1 и 2). Доставка белков-предшественников к внешней мембране митохондрий может идти двумя путями. Один путь зависит от *N*-этилмалеимидчувствительного MSF, гидролиза АТР и использует рецепторный субкомплекс Tom70–Tom72–Tom37 (рис. 1, А); другой – от Hsp70, АТР-независим и использует рецепторный субкомплекс Tom20–Tom22 (рис. 1, Б) [166]. Показано, что цитоплазматический домен белка Tom70 способен связываться с белком-предшественником только в присутствии MSF, формируя стабильный комплекс белок-предшественник–MSF–Tom70. Затем происходит АТР-зависимый перенос белка-предшественника из вышеуказанного комплекса на субкомплекс Tom20–Tom22. Tom20 образует комплекс с белком-предшественником в присутствии Hsp70, причем последний не входит в конечный комплекс [167].

Tom20–Tom22-рецептор, по-видимому, является универсальным, так как им непосредственно узнаются большинство белков-предшественников. В то же время этот субкомплекс вовлечен в импорт и тех белков-предшественников (ADP/АТР-транслокатор, переносчик фосфата, альдегиддегидрогеназа), которые первоначально узнаются Tom70–Tom72–Tom37-субкомплексом [27, 107, 117]. Не исключено, что пресиквенсы белков-предшественников до взаимодействия с рецепторами контактируют также с фосфолипидами внешней мембраны митохондрий [59, 64].

На основании того, что основные компоненты ТОМ-комплекса содержат отрицательно заряженные домены, в качестве модели транслокации процессируемых белков-предшественников через внешнюю мембрану митохондрии была предложена так называемая “гипотеза кислой цепи” (“acid chain hypothesis”) [84, 168]. В соответствии с этой моделью такие белки-предшественники транслоцируются через внешнюю мембрану, пе-

рескакивая с одного отрицательно заряженного домена ТОМ-комплекса на другой (их аффинность к положительно заряженному пресиквенсу возрастает по направлению к межмембранному пространству) [84, 169].

Наличие двух сайтов связывания пресиквенса на внешней мембране митохондрий было показано на экспериментах с везикулами из очищенных внешних мембран. Наблюдалось АТР-независимое взаимодействие пресиквенса с *цис*-сайтом на внешней поверхности (его формируют цитоплазматические домены Tom20 и Tom22), который чувствителен к обработке протеиназами, и *транс*-сайтом на внутренней поверхности внешней мембраны митохондрий [130].

Связь пресиквенса с *цис*-сайтом нестабильна. Далее пресиквенс связывается с отрицательно заряженным цитоплазматическим доменом Tom5. Tom5 тесно ассоциирован с Tom40 и, возможно, облегчает включение пресиквенса в GIP [89, 153].

После прохождения через пору канала пресиквенс взаимодействует с *транс*-сайтом, расположенным со стороны межмембранного пространства. На этой стадии сайт расщепления MPP экспонирован на внутренней стороне внешней мембраны. Связанные с *транс*-сайтом белки-предшественники расщеплялись MPP, включенной в просвет везикул из внешних мембран митохондрий, но не MPP, добавленной к суспензии везикул. Белок-предшественник после отщепления пресиквенса ферментом быстро диссоциировал от мембраны везикул; это являлось доказательством того, что белок-предшественник связывается с *транс*-сайтом при помощи пресиквенса. Взаимодействие белков-предшественников с *транс*-сайтом более устойчиво, чем с *цис*-сайтом [130, 132]. Оно приводит не только к транслокации *N*-концевого участка белка-предшественника через внешнюю мембрану митохондрий, но также помогает разворачиванию доменов, непосредственно следующих за пресиквенсом [130, 132].

Молекулярная структура *транс*-сайта не совсем ясна. *C*-Концевой домен Tom22 существует для импорта процессуемых белков-предшественников и может быть компонентом *транс*-сайта [170]. В то же время делеция *C*-концевого домена Tom22 в *N. crassa* и дрожжах не вызывает значительного угнетения роста клеток. В митохондриях или внешних мембранах митохондрий, выделенных из таких клеток, наблюдается слабое уменьшение импортной активности и связывания белков-предшественников с *транс*-сайтом [171]. Скорее всего, домен белка Tom22, экспонированный в межмембранное пространство, не является основной частью *транс*-сайта. Показано, что в процессе импорта пресиквенс может быть кросс-сшит с межмембранным доменом Tom40, который, вероятно, и является основным компонен-

том *транс*-сайта [172]. Предполагается, что кроме Tom22 и Tom40 в формировании *транс*-сайта может принимать участие также межмембранный домен Tom7 [153]. Комплексные эксперименты, подтверждающие эту гипотезу, были проведены Комия с соавт. [169].

Первоначальная рецепция непроецессуемых предшественников белков-переносчиков в митохондриях дрожжей осуществляется Tom70–Tom72–Tom37-субкомплексом (по некоторым данным только Tom70 [173]), который связывает комплекс белок-предшественник–MSF (либо другой шаперон) (рис. 2). Затем, используя энергию гидролиза АТР, шапероны высвобождаются из этого субкомплекса, а Tom70 контактирует с комплексом GIP и передает белок-предшественник в импортный канал Tom40. В этом процессе с *цис*-стороны внешней мембраны митохондрий участвуют Tom20, Tom22 и Tom5, а с *транс*-стороны – Tim9 и Tim10 [173].

Механизм транслокации через GIP не известен, но имеющиеся данные позволяют утверждать, что он отличается от механизма транслокации процессуемых белков-предшественников [173].

Белки-предшественники, несущие сигнал направления в матрикс, межмембранное пространство или внутреннюю мембрану митохондрий, далее взаимодействуют с TIM-комплексом. Импорт белков-предшественников, несущих сигнал сортировки во внешнюю мембрану митохондрий, прерывается, и они высвобождаются из ТОМ-комплекса. Tom7 может быть одним из компонентов, участвующих в этом процессе [27].

#### Модели импорта белков-предшественников в матрикс митохондрий

Как уже было сказано ранее, ТОМ-комплекс инициирует импорт пресиквенса белка-предшественника через внешнюю мембрану митохондрий, где тот связывается с *транс*-сайтом ТОМ-комплекса. Далее пресиквенс переносится на TIM-комплекс. На этой стадии происходит разделение путей импорта матриксных белков-предшественников и предшественников белков-переносчиков внутренней мембраны митохондрий. Первые взаимодействуют далее с Tim23–Tim17-субкомплексом (см. рис. 1), а вторые с Tim22–Tim54-субкомплексом (см. рис. 2).

Механизм переноса матриксных белков-предшественников на Tim23–Tim17-субкомплекс не совсем ясен. Возможно, в нем участвуют некоторые белки межмембранного пространства [2, 27, 153]. Tim23 связывается с пресиквенсом за счет своего *N*-концевого гидрофильного домена, что приводит к диссоциации Tim23–Tim23-димера. Это в свою очередь вызывает конформационные изменения, приводящие к открытию транслокацион-

ного канала внутренней мембраны митохондрий. Транслокационный канал формируется гидрофобными участками белков Tim23, Tim17 и, возможно, некоторыми неидентифицированными пока компонентами. Пресиквенс транслируется по каналу в матрикс, где с ним могут связаться матриксный домен Tim44 и mtHsp70. В этот момент белок-предшественник сшивает внешнюю и внутреннюю мембраны митохондрий и образуется транслокационный контактный сайт [73]. Как наличие трансмембранной разности электрических потенциалов, так и связывание полипептидных цепей белка-предшественника с mtHsp70 необходимы для инициации транслокации белка-предшественника через внутреннюю мембрану митохондрий [154]. Для связывания mtHsp70 с белком-предшественником требуется энергия гидролиза АТФ. Это обуславливает необходимость наличия АТФ в матриксе для импорта белков-предшественников [174–177]. Дальнейший импорт обуславливается циклическим взаимодействием полипептидных цепей белка-предшественника с Tim44–mtHsp70-комплексом.

Белки скользят через канал, образованный TOM–TIM-комплексом, в развернутом состоянии [178–180]. В том случае, когда лишь небольшой фрагмент белка-предшественника проникает в матрикс и связывание с mtHsp70 заблокировано, белок-предшественник способен к обратному движению и выходит из транслокационного канала [154, 181].

Вопрос о том, каким именно образом mtHsp70 и гидролиз АТФ обеспечивают протягивание белка-предшественника в матрикс, остается открытым. Для объяснения механизма этого процесса были предложены две модели: модель молекулярного храпового механизма [139, 163] и модель молекулярного мотора [160, 182].

Согласно модели молекулярного храпового механизма (molecular ratchet model), белок-предшественник в развернутом виде колебательно скользит за счет энергии броуновского движения через пору TOM–TIM-комплекса, и mtHsp70 ловит и задерживает полипептидные цепи в матриксе, т.е. mtHsp70 действует как храповик, предотвращая обратное скольжение белка-предшественника в транслокационной поре. Взаимодействие mtHsp70 с импортируемой полипептидной цепью опосредуется через Tim44, который, находясь вблизи поры импортного канала, взаимодействует со вновь входящей полипептидной цепью белка-предшественника. MtHsp70–АТФ-комплекс связывается с таким Tim44, и полипептидная цепь белка-предшественника переносится с Tim44 на mtHsp70. АТФ гидролизует, и комплекс белок-предшественник–mtHsp70–ADP диссоциирует от Tim44. Становится возможным следующее скользящее движение белка-предшественника. Затем

начинается новый цикл присоединения mtHsp70–АТФ-комплекса к участку полипептидной цепи, более близко расположенной к С-концу белка-предшественника, чем предыдущая.

Детали нуклеотидрегулируемой динамики комплекса Tim44–mtHsp70–MGE–белок-предшественник пока не совсем ясны [100, 162, 183]. Хотя в последнее время появилась так называемая модель “из рук в руки” (“hand-over-hand” model) [184]. Согласно этой модели, субкомплекс Tim23–Tim17–Tim44 функционирует в виде димера. В каждой мономерной компоненте этого димера с молекулой белка Tim44 связан один mtHsp70–АТФ-комплекс. Молекулы mtHsp70 друг с другом не взаимодействуют. В mtHsp70–АТФ-комплексе имеется открытый карман, который может взаимодействовать с полипептидной цепью импортируемого белка-предшественника. Как только пресиквенс этого белка попадает в карман, происходит гидролиз АТФ и карман тесно взаимодействует с полипептидной цепью пресиквенса (действует как храповик). MtHsp70–ADP-комплекс, связанный с пресиквенсом, легко взаимодействует с кошапероном MGE, что в свою очередь приводит к разрушению ассоциации MGE–mtHsp70–ADP-комплекса с Tim44. Так как MGE–mtHsp70–ADP-комплекс остается связанным с пресиквенсом, то белок-предшественник за счет осцилляции может двигаться только в матрикс, и в открытый карман второго mtHsp70–АТФ-комплекса попадает следующий участок полипептидной цепи импортируемого белка, происходит гидролиз АТФ и карман связывает этот участок. Освободившийся белок Tim44 первого мономера связывает новый mtHsp70–АТФ-комплекс. Таким образом происходит как бы передача импортируемого белка из одной руки в другую. Эти циклы передачи повторяются. Взаимодействие MGE с комплексом mtHsp70–ADP–белок-предшественник стимулирует высвобождение ADP из комплекса с mtHsp70. Дальнейшее присоединение к шаперону mtHsp70 молекулы АТФ вызывает диссоциацию MGE и высвобождение из кармана участка полипептидной цепи белка-предшественника. MtHsp70–АТФ-комплекс затем может связаться со свободным белком Tim44.

Модель молекулярного мотора предполагает, что для силового протягивания белка-предшественника через пору TOM–TIM-комплекса в матриксе митохондрий могут быть использованы конформационные изменения mtHsp70, связанного с Tim44, при гидролизе АТФ. MtHsp70–ADP-комплекс диссоциирует от полипептидной цепи и Tim44. Новый цикл протягивания иницируется присоединением новой молекулы mtHsp70–АТФ-комплекса к Tim44. Многократное повторение этого цикла обеспечивает последовательную транслокацию белка-предшественника в матрикс. Компоненты TIM-комплекса предотвраща-

ют обратное скольжение белка-предшественника в импортном канале, в то время когда mtHsp70 диссоциирует от полипептидной цепи.

Возможно, что оба предложенных механизма могут быть задействованы в клетке в зависимости от степени свернутости белка-предшественника. Так, авторы работы [185] предполагают, что при импорте белка-предшественника, молекула которого практически развернута, mtHsp70 выступает только в роли храповика, и Tim44 не нужен. Однако в случае импорта белка-предшественника с плотно свернутыми доменами имеют место оба выше рассмотренных механизма и присутствие Tim44 необходимо.

Не исключено и наличие механизма, отличающегося от вышеуказанных моделей. Так, в последнее время было показано участие в инициации транслокации через Tim23–Tim17-комплекс GTP-связывающих белков, локализованных на *цис*-стороне внутренней мембраны митохондрий (GTP-“толчок”) [186]. Кроме того, недавно было установлено, что импорт белка-предшественника в матрикс митохондрий клубней картофеля ингибируется такими реагентами, модифицирующими SH-группы, как *N*-этилмалеимид, 5,5'-дитиобис(2-нитробензойная кислота), 3-(*N*-малеимидо-пропионил)биотин и ионы  $\text{Cu}^{2+}$ , причем такое ингибирование вызывала только модификация SH-групп субъединиц TIM-комплекса [70]. Восстанавливающие же реагенты, например дитиотреит, активировали импорт. Отсюда был сделан вывод, что для импорта белков-предшественников в матрикс митохондрий необходимо наличие свободных SH-групп в TIM-комплексе. Авторы работы [70] высказали предположение, что поскольку в эукариотических клетках в довольно больших концентрациях (0.1–10 мМ) может присутствовать в восстановленной форме глутатион, то, вероятно, восстанавливающий статус клетки может выступать регулятором активности “импортной машины” митохондрий.

#### *Модель включения белков-переносчиков во внутреннюю мембрану митохондрий*

В передаче белков-переносчиков с *транс*-стороны TOM-комплекса на Tim22–Tim54-субкомплекс участвуют три белка межмембранного пространства: Tim9, Tim10 и Tim12 [101, 104, 173] (см. рис. 2). Tim9–Tim10-комплекс (70 кДа) взаимодействует с частично транслоцированным белком-переносчиком, а затем кооперирует с Tim12, ассоциированным с Tim22–Tim54-субкомплексом. Каким именно образом осуществляется транслокация белка-переносчика с одного комплекса на другой, не установлено [105]. По некоторым данным в этом процессе участвуют также белки межмембранного пространства Tim8 и Tim13 (комплекс Tim8–Tim13) [99]. Далее белок-пере-

носчик взаимодействует с Tim22–Tim54-субкомплексом и включается  $\Delta\psi$ -зависимым образом во внутреннюю мембрану митохондрии [101]. Каким образом используется энергия  $\Delta\psi$  для этого процесса пока не ясно. Затем происходит высвобождение белка-переносчика из Tim22–Tim54-субкомплекса в липидную фазу внутренней мембраны митохондрий и его сборка в функциональный димер.

### ПРОЦЕССИНГ БЕЛКОВ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В МАТРИКСЕ МИТОХОНДРИЙ И ПЕПТИДАЗЫ ПРОЦЕССИНГА

Большинство белков-предшественников, кодируемых ядерным геномом, содержат пресиквенс, который протеолитически отщепляется в процессе транслокации или после окончательного вхождения белка в митохондрию (см. табл. 1). Чаще всего пресиквенс удаляется одноэтапным протеолизом, катализируемым митохондриальной пептидазой процессинга (MPP) (см. обзоры [2, 4]). Процессинг некоторых белков-предшественников происходит в два этапа: сначала MPP отщепляет сигнальный пептид, а затем митохондриальная промежуточная пептидаза (MIP) удаляет последующий октапептид.

MPP всех организмов состоит из двух компонентов:  $\alpha$ MPP (55 кДа) и  $\beta$ MPP (52 кДа) (см. обзоры [2, 4]). Оба компонента гетеродимера MPP необходимы для обеспечения протеолитической активности [187]. Интересно взаимодействие этих двух компонентов в разных организмах. У дрожжей и млекопитающих MPP – гетеродимер, локализованный в матриксе [188, 189]. В *N. crassa*  $\alpha$ MPP и  $\beta$ MPP представлены в матриксе как индивидуальные белки, однако основная часть  $\beta$ MPP ассоциирована с цитохром-*bc*<sub>1</sub>-комплексом и идентична так называемому коровому белку I [190]. В растениях MPP является интегральной частью цитохром-*bc*<sub>1</sub>-комплекса или цитохром-*c*-редуктазного комплекса (см. обзоры [188, 191]).

Известна первичная структура  $\alpha$ MPP и  $\beta$ MPP различных организмов [188, 192].  $\alpha$ MPP,  $\beta$ MPP и коровые белки цитохром-*bc*<sub>1</sub>-комплекса принадлежат к обширному семейству металлопептидаз. Вполне вероятно, что как коровые белки цитохром-*bc*<sub>1</sub>-комплекса, так и субъединицы MPP эволюционировали от общего протофермента [188].  $\beta$ MPP содержит характерный для металлопептидаз мотив НХХЕН. Мутации в этом мотиве приводят к потере  $\alpha$ MPP протеолитической активности [188]. Вероятно,  $\beta$ MPP узнает сайты отщепления пресиквенса и представляет их  $\beta$ MPP, обладающей основной каталитической активностью [193, 194].

MIP, выделенная из митохондрий крысы, также принадлежит к семейству металлопептидаз, она состоит из 710 а.о. и содержит НХХЕН-мотив [195, 196]. В дрожжах MIP представляет собой бе-

лок, состоящий из 722 а.о. Делеция гена, кодирующего МРР, приводит к нарушению дыхания клеток [197].

Более подробно о протеолитическом процессе белков, импортированных в митохондрии, можно прочитать в обзорах [2, 4, 188, 191, 194].

Белок-предшественник транслоцируется через митохондриальные мембраны в развернутом виде. Для нормального функционирования он должен свернуться в нативное состояние. В процессе сворачивания белка-предшественника принимают участие системы шаперонов mtHsp70/MGE и шаперонинов Hsp60/Hsp10, а также пептидил-пролил-*цис-транс*-изомеразы (PPI-азы). Подробно с проблемой сворачивания белков-предшественников в матрике митохондрий можно ознакомиться в обзорах Нойперта [2] и Мартина [198].

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Schatz G., Dobberstein B. // *Science*. 1996. V. 271. P. 1519–1526.
- Neupert W. // *Annu. Rev. Biochem.* 1997. V. 66. P. 863–917.
- Pfanner N., Craig E.A., Holinger A. // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 1997. V. 13. P. 25–51.
- Whelan J., Glazer E. // *Plant. Mol. Biol.* 1997. V. 33. P. 771–789.
- Hartl F.-U., Pfanner N., Nicholson D.W., Neupert W. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1989. V. 88. P. 1–45.
- Reid G.A., Schatz G. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 13062–13067.
- Hallermayer G., Zimmermann R., Neupert W. // *Eur. J. Biochem.* 1977. V. 81. P. 523–532.
- Liu S.Y., Wong-Riley M.J. // *Neuroscience*. 1994. V. 14. P. 5338–5351.
- Hönlinger A., Keil P., Nelson R.J., Craig E.A., Pfanner N. // *Biol. Chem. Hoppe – Seyler*. 1995. V. 376. P. 515–519.
- Schwarz E., Neupert M. // *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics*. 1994. V. 1187. P. 270–274.
- Hachiya N., Alam R., Sakasegawa Y., Sakaguchi M., Mihara K., Omura T. // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 1579–1586.
- Lithgow T., Hoj P.B., Hoogenraad N.J. // *FEBS Lett.* 1993. V. 329. P. 1–4.
- Hachiya N., Komia T., Alam R., Iwahashi J., Sakaguchi M., Omura T., Mihara K. // *EMBO J.* 1994. V. 13. P. 5146–5154.
- Murakami K., Tanase S., Morino Y., Mori M. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 13119–13122.
- Ono H., Tuboi S. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1990. V. 280. P. 299–304.
- Ono H., Tuboi S. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1990. V. 277. P. 368–373.
- Scherrer L.C., Hutchison K.A., Sanchez E.R., Randall S.K., Pratt W.B. // *Biochemistry*. 1992. V. 31. P. 7325–7329.
- Chirico W.J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992. V. 189. P. 1150–1156.
- Verner K. // *Trends Biochem. Sci.* 1993. V. 18. P. 366–371.
- Kellems R.E., Allison V.F., Butow R.A. // *J. Cell Biol.* 1975. V. 65. P. 1–14.
- Adelman M.R., Sabatini D., Blobel G. // *J. Cell Biol.* 1973. V. 56. P. 206–229.
- Kellems R.E., Allison V.F., Butow R.A. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. P. 3297–3303.
- Crowley K.S., Payne R.M. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 17278–17285.
- Suissa M., Schatz G. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 13048–13055.
- Fujiki M., Verner K. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 6841–6847.
- Fujiki M., Verner K. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 1914–1920.
- Haucke V., Lithgow T. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1997. V. 29. P. 11–17.
- Lithgow T., Cuezva J.M., Silver P.A. // *Trends Biochem. Sci.* 1997. V. 22. P. 110–113.
- von Heijne G., Steppuhn J., Herrmann R.G. // *Eur. J. Biochem.* 1989. V. 180. P. 535–545.
- Lemire B.D., Fankhauser C., Baker A., Schatz G. // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. P. 20206–20215.
- Emmermann M., Braun H.R., Schmitz U.K. // *Curr. Genetics*. 1991. V. 20. P. 405–410.
- Roise D. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1997. V. 29. P. 19–27.
- Endo T., Shimada I., Roise D., Inagaki F. // *J. Biochem.* 1989. V. 106. P. 396–400.
- Epand R.M., Hui S.-W., Argan C., Gillespie L.L., Shore G.C. // *J. Biol. Chem.* 1986. V. 261. P. 10017–10020.
- Roise D., Horvath S.J., Tomich J.M., Richards J.H., Schatz G. // *EMBO J.* 1986. V. 5. P. 1327–1334.
- von Heijne G. // *EMBO J.* 1986. V. 5. P. 1335–1342.
- Roise D., Theiler F., Horvath S.J., Tomich J.M., Richards J.H., Allison D.S., Schatz G. // *EMBO J.* 1988. V. 7. P. 649–653.
- Mozo T., Fisher K., Flügge U.I., Schmitz U.K. // *Plant J.* 1995. V. 7. P. 1015–1020.
- Huang J.T., Leving C.S. // *Plant Mol. Biol.* 1995. V. 29. P. 519–533.
- Tanudji M., Sjöling S., Glazer E., Whelan J. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 1286–1293.
- Gavel Y., von Heijne G. // *Protein Engineering*. 1990. V. 4. P. 33–37.
- Sjöling S., Eriksson A.G., Glazer E. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 32059–32062.
- Lee C.M., Sedman J., Neupert W., Stuart R.A. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 20937–20942.
- Chaumont F., Bernier B., Buxant R., Williams M.E., Levings S., Boutry M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. P. 1167–1171.
- Murakami H., Pain D., Blobel G. // *J. Cell Biol.* 1988. V. 107. P. 2051–2057.
- Neupert W., Pfanner N. // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*. 1993. V. 339. P. 355–362.
- Endo T., Mitsui S., Nakai M., Roise D. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. P. 4161–4167.
- Sheffield W.P., Shore G.C., Randell S.K. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 11069–11076.
- Kanazawa M., Terada K., Kato S., Mori M. // *J. Biochem. (Tokyo)*. 1997. V. 121. P. 890–905.
- Atencio D.P., Yaffe M.P. // *Mol. Cell Biol.* 1992. V. 12. P. 283–291.



51. Lithgow T., Glick B.C., Schatz G. // Trends Biochem. Sci. 1995. V. 20. P. 98–101.
52. Garrett J.M., Singh K.K., Vonder Haar R.A., Emr S.D. // Mol. Gen. Genet. 1991. V. 255. P. 483–491.
53. Cartwright P., Beilharz T., Hansen P., Garrett J., Lithgow T. // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 5320–5325.
54. George R., Beddoe T., Landl K., Lithgow T. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 2296–2301.
55. Murakami K., Mori M. // EMBO J. 1990. V. 9. P. 3201–3208.
56. Komiya T., Hachiya N., Sakaguchi M., Omura T., Miha-ra K. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 30893–30897.
57. Becker K., Guiard B., Rassow J., Sollner T., Pfanner N. // J. Biol. Chem. 1992. V. 267. P. 5637–5643.
58. Swanson S.T., Roise D. // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 5746–5751.
59. Hajek P., Bedwell D.M. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 7192–7200.
60. Nagaraj R. // FEBS Lett. 1984. V. 165. P. 79–82.
61. Leenhouts J.M., Torok Z., Mandiau V., Goormaghtigh E., Decruiff B. // FEBS Lett. 1996. V. 388. P. 34–38.
62. Leenhouts J.M., Degier J., Decruiff B. // FEBS Lett. 1993. V. 327. P. 172–176.
63. Leenhouts J.M., Torok Z., Demel R.A., Degier J., Decruiff B. // Molecular Membrane Biol. 1994. V. 11. P. 159–164.
64. Torok Z., Demel R.A., Leenhouts J.M., Decruiff B. // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 5589–5594.
65. Mandiau V., Martin I., Ruyschaert J.M. // FEBS Lett. 1995. V. 368. P. 15–18.
66. Snel M.M.E., Dekroon A.I.P.M., Marsh D. // Biochemistry. 1995. V. 34. P. 3605–3613.
67. Chupin V., Leenhouts J.M., Dekroon A.I.P.M., Decruiff B. // FEBS Lett. 1995. V. 373. P. 239–244.
68. Yu Y.G., Thorgeirsson T.E., Shin Y.K. // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 14221–14226.
69. von Stedingk E., Pavlov P.F., Grinkevich V.A., Glazer E. // Plant. Mol. Biol. 1999. V. 41. P. 505–515.
70. von Stedingk E., Pavlov P.F., Grinkevich V.A., Glazer E. // Plant. Mol. Biol. 1997. V. 35. P. 809–820.
71. Sequi-Real B., Kispal G., Lill R., Neupert W. // EMBO J. 1993. V. 12. P. 2211–2218.
72. Horst M., Hillikerrothenfluh S., Opplinger W., Schatz G. // EMBO J. 1995. V. 14. P. 2293–2297.
73. Schwaiger M., Herzog V., Neupert W. // J. Cell Biol. 1987. V. 105. P. 235–246.
74. Schülke N., Sepuri N.B.V., Pain D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 7314–7319.
75. Sirrenberg C., Endres M., Becker K., Bauer M.F., Walther E., Neupert W., Brunner M. // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 29963–29966.
76. Pfanner N., Douglas M.G., Endo T., Hoogenraad N.J., Jensen R.E., Meijer M., Neupert W., Schatz G., Schmitz U.K., Shore G.S. // Trends Biochem. Sci. 1996. V. 21. P. 51–52.
77. Schlossmann J., Lill R., Neupert W., Court D.A. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 17890–17895.
78. Komiya T., Michara K. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 22105–22110.
79. Nuttall S.D., Hanson B.J., Mori M., Hoogenraad N.J. // DNA Cell Biol. 1997. V. 16. P. 1067–1074.
80. Jansch L., Kruff V., Schmitz U.K., Braun H.P. // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 17251–17257.
81. Vestweber D., Brunner J., Baker A., Schatz G.A. // Nature. 1989. V. 341. P. 205–209.
82. Gratzner S., Lithgow T., Bauer R.E., Lamping E., Paltauf F., Kohlwein S.D., Haucke V., Junne T., Schatz G., Horst M. // J. Cell Biol. 1995. V. 129. P. 25–34.
83. Lithgow T., Junne T., Suda K., Gratzner S., Schatz G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 11973–11977.
84. Hönlinger A., Kübrich M., Moczko M., Gartner F., Mallet L., Bussereau F., Eckerskorn C., Lottspeich F., Dietmeier K., Jacquet M., Pfanner N. // Mol. Cell Biol. 1995. V. 15. P. 3382–3389.
85. Goping I.S., Millar D.G., Shore G.C. // FEBS Lett. 1995. V. 373. P. 45–50.
86. Ramage L., Junne T., Hahne K., Lithgow T., Schatz G. // EMBO J. 1993. V. 12. P. 4115–4123.
87. Alconada A., Kübrich M., Moczko M., Hönlinger A., Pfanner N. // Mol. Cell Biol. 1995. V. 15. P. 6196–6205.
88. Kassenbrock C.K., Cao W., Douglas M.G. // EMBO J. 1993. V. 12. P. 3023–3034.
89. Dietmeier K., Hönlinger A., Bömer U., Dekker P.J., Eckerskorn C., Lottspeich F., Kübrich M., Pfanner N. // Nature. 1997. V. 388. P. 195–200.
90. Kerscher O., Holder J., Srinivasan M., Leung R.S., Jensen R.E. // J. Cell Biol. 1997. V. 139. P. 1663–1675.
91. Maarse A.U., Blom J., Grivell L.A., Meijer M. // EMBO J. 1992. V. 11. P. 3619–3628.
92. Horst M., Jenö P., Kronidou N.G., Bolliger L., Opplinger W., Scherer P., Manning-Kreig U., Jascur T., Schatz G. // EMBO J. 1993. V. 12. P. 3035–3041.
93. Blom J., Kübrich M., Rassow J., Voos W., Dekker P.J.T., Maarse A.C., Meijer M., Pfanner N. // Mol. Cell Biol. 1993. V. 13. P. 7364–7371.
94. Dekker P.J., Keil P., Rassow J., Maarse A.C., Pfanner N., Meijer M. // FEBS Lett. 1993. V. 330. P. 66–70.
95. Emtage J.L.T., Jensen R.E. // J. Cell Biol. 1993. V. 122. P. 1003–1012.
96. Sirrenberg C., Bauer M.F., Guiard B., Neupert W., Brunner M. // Nature. 1996. V. 384. P. 582–585.
97. Maarse A.C., Blom J., Keil P., Pfanner N., Meijer M. // FEBS Lett. 1994. V. 349. P. 215–221.
98. Ryan K.R., Menold M.M., Garrett S., Jensen R.F. // Mol. Biol. Cell. 1994. V. 5. P. 529–538.
99. Koehler C.M., Leuenberger D., Merchant S., Renold A., Junne T., Schatz G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 2141–2146.
100. Koehler C.M., Jarosh E., Tokatlidis K., Schmid K., Schweyen R.J., Schatz G. // Science. 1998. V. 279. P. 369–373.
101. Sirrenberg C., Endres M., Fölsch H., Stuart R.A., Neupert W., Brunner M. // Nature. 1998. V. 391. P. 912–915.
102. Tokatlidis K., Junne T., Moes S., Schatz G., Glick B.S., Kronidou N. // Nature. 1996. V. 384. P. 585–588.
103. Arnold I., Bauer M.F., Brunner M., Neupert W., Stuart R.A. // FEBS Lett. 1997. V. 411. P. 195–200.
104. Koehler C.M., Merchant S., Opplinger W., Schmid K., Jarosh E., Dolfini L., Junne T., Schatz G., Tokatlidis K. // EMBO J. 1998. V. 17. P. 6477–6486.
105. Adam A., Endres M., Sirrenberg C., Lottspeich F., Neupert W., Brunner M. // EMBO J. 1999. V. 18. P. 313–319.
106. McBride H.M., Millar D.G., Li J.M., Shore G.C. // J. Cell Biol. 1992. V. 119. P. 1451–1457.
107. Lill R., Neupert W. // Trends Cell Biol. 1996. V. 6. P. 56–61.

108. Millar D.G., Shore G.C. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 18403–18406.
109. Millar D.G., Shore G.C. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 12229–12233.
110. Hanson B., Nuttal S., Hoogenraad N. // *Eur. J. Biochem.* 1996. V. 235. P. 750–753.
111. Haucke V., Shatz G. // *Trends Cell Biol.* 1997. V. 7. P. 103–106.
112. Haucke V., Horst M., Schatz G., Lithgow T. // *EMBO J.* 1996. V. 15. P. 1231–1237.
113. Schlossmann J., Neupert W. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 27116–27121.
114. Mayer A., Nargang F.E., Neupert W., Lill R. // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 4204–4211.
115. Hachia N., Mihara K., Suda K., Horst M., Schatz G., Lithgow T. // *Nature.* 1995. V. 376. P. 705–709.
116. Kiebler M., Pfaller R., Söllner T., Griffiths G., Horstmann H., Pfanner N., Neupert W. // *Nature.* 1990. V. 348. P. 610–616.
117. Iwahashi J., Yamazaki S., Komiya T., Nomura N., Nishikawa S., Endo T., Mihara K. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 18467–18472.
118. Moczek M., Ehmman B., Garther F., Holinger A., Schaffer E., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 9045–9051.
119. Court D.A., Lill R., Neupert W. // *Can. J. Bot.* 1995. V. 73. P. 193–197.
120. Hönlinger A., Bömer U., Alconada A., Eckerskorn C., Lottspeich F., Dietmeier K., Pfanner N. // *EMBO J.* 1996. V. 15. P. 2125–2137.
121. Dekker R.J.T., Muller H., Rassow J., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. P. 535–538.
122. Kunkele K.P., Heins S., Dembrowsky M., Nargang F.E., Benz R., Thieffry M., Walz J., Lill R., Nussberger S., Neupert W. // *Cell.* 1998. V. 93. P. 1009–1019.
123. Dekker R.J.T., Ryan M.T., Brix J., Muller H., Hönlinger A., Pfanner N. // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 6515–6524.
124. Rapaport D., Kunkele K.P., Dembrowski M., Ahting U., Nargang F.E., Neupert W., Lill R. // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 5256–5262.
125. Lithgow T., Junne T., Wachter C., Schatz G. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 15325–15330.
126. Harkness T.A.A., Nargang F.E., Vanderklei I., Neupert W., Lill R. // *J. Cell Biol.* 1994. V. 124. P. 637–648.
127. Haucke V., Schatz G. // *Trends Cell Biol.* 1997. V. 7. P. 103–106.
128. Haucke V., Lithgow T., Rospert S., Hahne K., Schatz G. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 5565–5570.
129. Brix J., Dietmeier K., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 20730–20735.
130. Mayer A., Neupert W., Lill R. // *Cell.* 1995. V. 80. P. 127–137.
131. Nargang F.E., Rapaport D., Ritzel R.G., Neupert W., Lill R. // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 3173–3181.
132. Brunner M., Schneider H.C., Neupert W. In *Protein Kinases: the Dynamics of Protein Trafficking and Stability*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1995. V. LX. P. 619–627.
133. Brix J., Rüdiger S., Bukau B., Schneider-Mergener J., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 16522–16530.
134. Schlossmann J., Dietmeier K., Pfanner N., Neupert W. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 11893–11901.
135. Perryman R.A., Mooney B., Harmey M.A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1995. V. 316. P. 659–664.
136. Pfanner N. // *Current Biol.* 1998. V. 8. P. 262–265.
137. Kübrich M., Keil P., Rassow J., Dekker P.J.T., Blom J., Meijer M., Pfanner N. // *FEBS Lett.* 1994. V. 349. P. 222–228.
138. Bömer U., Rassow J., Zufall N., Pfanner N., Meijer M., Maarse A.C. // *J. Mol. Biol.* 1996. V. 262. P. 289–295.
139. Schneider H.-C., Bertold J., Bauer M.F., Dietmeier K., Guiard B., Brunner M., Neupert W. // *Nature.* 1994. V. 371. P. 768–774.
140. Berthold J., Bauer M.F., Schneider H.-C., Klaus C., Dietmeier K., Neupert W., Brunner M. // *Cell.* 1995. V. 81. P. 1085–1093.
141. Blom J., Dekker P.J.T., Meijer M. // *Eur. J. Biochem.* 1995. V. 232. P. 309–314.
142. Dekker P.J., Martin F., Maarse A.C., Bömer U., Müller H., Guiard B., Meijer M., Rassow J., Pfanner N. // *EMBO J.* 1997. V. 16. P. 5408–5419.
143. Kang P.J., Ostermann J., Shilling J., Neupert W., Craig E.A., Pfanner N. // *Nature.* 1990. V. 348. P. 137–143.
144. Rassow J., Maarse A.C., Krainer E., Kübrich M., Müller H., Meijer M., Craig E.A., Pfanner N. // *J. Cell Biol.* 1994. V. 127. P. 1547–1556.
145. Laloraya S., Gambill B.D., Craig E.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 6481–6485.
146. Nakai M., Kato Y., Ikeda E., Tohe A., Endo T. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 200. P. 435–442.
147. Bollinger L., Deloche O., Glick B.S., Georgopoulos C., Jenö P., Kronidou N., Horst M., Morishima N., Schatz G. // *EMBO J.* 1994. V. 13. P. 1998–2006.
148. Miao B., Davis J.E., Craig E.A. // *J. Mol. Biol.* 1997. V. 265. P. 541–552.
149. Ryan K.R., Jensen R.E. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 23743–23746.
150. Ryan K.R., Leung R.S., Jensen R.E. // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 178–187.
151. Bauer M.F., Sirrenberg C., Neupert W., Brunner M. // *Cell.* 1996. V. 87. P. 33–41.
152. Schwartz M.P., Huang S., Matouschek A. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 12759–12764.
153. Schatz G. // *Nature.* 1997. V. 388. P. 121–122.
154. Udermann C., Guiard B., Neupert W., Cyr D.M. // *EMBO J.* 1996. V. 15. P. 735–744.
155. Gambill B.D., Voos W., Kang P.J., Miao B., Langer T., Craig E.A., Pfanner N. // *J. Cell Biol.* 1993. V. 123. P. 109–117.
156. Voos A.U., Gambill B.D., Guiard B., Pfanner N., Craig E.A. // *J. Cell Biol.* 1993. V. 123. P. 119–126.
157. Ostermann J., Voos W., Kang P.J., Craig E.A., Neupert W., Pfanner N. // *FEBS Lett.* 1990. V. 277. P. 281–284.
158. Manning-Kreig U.C., Scherer P.E., Schatz G. // *EMBO J.* 1991. V. 10. P. 3273–3280.
159. Kronidou N.G., Opplinger W., Bollinger L., Hannavy K., Glick B.S., Schatz G., Horst M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 12818–12822.
160. Horst M., Opplinger W., Feifel B., Schatz G., Glick B.S. // *Prot. Sci.* 1996. V. 5. P. 759–767.
161. von Ahsen O., Voos W., Henninger H., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 29848–29853.
162. Westermann B., Prip-Buus C., Neupert W., Schwarz E. // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 3452–3460.

163. Neupert W., Hartl F.U., Craig E.A., Pfanner N. // *Cell*. 1990. V. 63. P. 447–450.
164. Bömer U., Maarse A.C., Martin F., Geissler A., Merlin A., Schönfisch B., Meijer M., Pfanner N., Rassow J. // *EMBO J.* 1998. V. 17. P. 4226–4237.
165. Bömer U., Meijer M., Maarse A.C., Hönlinger A., Dekker P.J., Pfanner N., Rassow J. // *EMBO J.* 1997. V. 16. P. 2205–2216.
166. Komiya T., Sakagushi M., Mihara K. // *EMBO J.* 1996. V. 15. P. 399–407.
167. Komiya T., Rospert S., Schatz G., Mihara K. // *EMBO J.* 1997. V. 16. P. 4267–4275.
168. Bolliger L., Junne T., Schatz G., Lithgow T. // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 6318–6326.
169. Komiya T., Rospert S., Koehler C., Looser R., Schatz G., Michara K. // *EMBO J.* 1998. V. 17. P. 3886–3898.
170. Moczko M., Bömer U., Kübrich M., Zufall N., Hönlinger A., Pfanner N. // *Mol. Cell Biol.* 1997. V. 17. P. 6574–6584.
171. Court D.A., Nargang F.E., Steiner H., Hodges R.S., Neupert W., Lill R. // *Mol. Cell Biol.* 1996. V. 16. P. 4035–4042.
172. Rapaport D., Neupert W., Lill R. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 18725–18731.
173. Ryan M.T., Müller H., Pfanner N. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 20619–20627.
174. Wachter C., Schatz G., Glick B.S. // *Mol. Biol. Cell.* 1994. V. 5. P. 465–474.
175. Stuart R.A., Cyr D.M., Neupert W. // *Trends Biochem. Sci.* 1994. V. 19. P. 87–92.
176. Hwang S.T., Schatz G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989. V. 86. P. 8432–8436.
177. Stuart R.A., Gruhler A., van der Klei I., Guiard B., Koll H., Neupert W. // *Eur. J. Biochem.* 1994. V. 220. P. 9–18.
178. Rassow J., Guiard B., Winhues U., Herzog V., Hartl F.U., Neupert W. // *J. Cell Biol.* 1989. V. 109. P. 1421–1428.
179. Eilers M., Schatz G. // *Nature.* 1986. V. 322. P. 228–232.
180. Rassow J., Hartl F.U., Guiard B., Pfanner N., Neupert W. // *FEBS Lett.* 1990. V. 275. P. 190–194.
181. Ungermann C., Neupert W., Cyr D.M. // *Science.* 1994. V. 266. P. 1250–1253.
182. Pfanner N., Meijer M. // *Current Biol.* 1995. V. 5. P. 132–135.
183. Azem A., Opplinger W., Lustig A., Jenö P., Feifel B., Schatz G., Horst M. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 20901–20906.
184. Bauer M.F., Hofmann S., Neupert W., Brunner M. // *Trends Cell Biol.* 2000. V. 10. P. 25–31.
185. Voisine C., Craig E.A., Zufall N., von Ahsen O., Pfanner N., Voos W. // *Cell.* 1999. V. 97. P. 565–574.
186. Sepuri N.B., Schulke N., Pain D. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 1420–1424.
187. Saavedra-Alanis V.M., Rysavy P., Rosenberg L.E., Kalousek F. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 9284–9288.
188. Braun H.P., Schmitz U.K. // *Trends Biochem. Sci.* 1995. V. 20. P. 171–175.
189. Ou W.J., Ito A., Okazaki H., Omura T. // *EMBO J.* 1989. V. 8. P. 2605–2612.
190. Schulte U., Arretz M., Schneider H., Tropeschug M., Wachter E., Neupert W., Weiss H. // *Nature.* 1989. V. 339. P. 147–149.
191. Glazer E., Eriksson A., Sjöling S. // *FEBS Lett.* 1994. V. 346. P. 83–87.
192. Emmermann M., Braun H.P., Arretz M., Schmitz U.K. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 18936–18942.
193. Yang M., Jensen R.E., Yaffe M.P., Opplinger W., Schatz G. // *EMBO J.* 1988. V. 7. P. 3857–3862.
194. Luciano P., Géli V. // *Experientia.* 1996. V. 52. P. 1077–1082.
195. Kalousek F., Isaya G., Rosenberg L.E. // *EMBO J.* 1992. V. 11. P. 2803–2809.
196. Isaya G., Kalousek F., Rosenberg L.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 8317–8321.
197. Isaya G., Miklos D., Rolling R.A. // *Mol. Cell. Biol.* 1994. V. 14. P. 5603–5616.
198. Martin J. // *J. Bioenerg. Biomemb.* 1997. V. 29. P. 35–43.

## Protein Import into Mitochondria

L. G. Zaitseva\*, T. V. Ovchinnikova\*, and V. A. Grinkevich\*\*#

\*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia

\*\*Department of Bioorganic Chemistry, Faculty of Biology, Moscow State University, Vorob'evy gory, Moscow, 119899 Russia

This review is focused on the import of processable precursor proteins into the mitochondrial matrix; the import of carrier proteins into the inner mitochondrial membrane is also briefly discussed. Post- and cotranslational theories of the import, specific features of the presequence structures, and effects of some cytosolic factors on the import of precursor proteins are reviewed. The data on the structure of the protein translocases of the outer (TOM complex) and the inner (TIM complex) membranes of mitochondria and the current models of the precursor protein import by these translocases are also summarized.

*Key words:* mitochondria, mitochondrial translocases for precursor proteins, protein import, TIM complex, TOM complex

# To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 939-1268; fax: +7 (095) 336-4333; e-mail: grin@soil.msu.ru.

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 9. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.