

Received: 2013.03.27  
Accepted: 2014.05.05  
Published: 2014.06.09

## Współdziałanie białek szoku cieplnego w organizowaniu struktury przestrzennej białek\*

### Cooperation between heat shock proteins in organizing of proteins spatial structure

Zbigniew Wyżewski<sup>1\*\*</sup>, Karolina P. Gregorczyk<sup>1\*\*</sup>, Lidia Szulc-Dąbrowska<sup>1</sup>,  
Justyna Struzik<sup>1\*\*</sup>, Joanna Szczepanowska<sup>2</sup>, Marek Niemiałtowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna  
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

<sup>2</sup>Pracownia Bioenergetyki i Błon Biologicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie

#### Streszczenie

Białka szoku cieplnego (heat shock proteins, Hsp) to klasa białek szeroko rozpowszechnionych w przyrodzie, zachowanych w ewolucji. Występują u archeonów, bakterii właściwych i organizmów eukariotycznych. Hsp, należące do różnych rodzin, współdziałają ze sobą w wykonywaniu istotnych zadań, takich jak nadzór nad prawidłowym zwijaniem nowo zsyntetyzowanych łańcuchów polipeptydowych albo przywracanie właściwej konformacji zdenaturowanym i zagregowanym białkom. W pracy przedstawiono mechanizmy organizowania struktury przestrzennej substratów białkowych, zachodzące z udziałem Hsp10, Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp104 (Hsp100) i Hsp110. Opisano mechanizmy współdziałania Hsp o różnych masach cząsteczkowych.

#### Słowa kluczowe:

białka szoku cieplnego • fałdowanie białek • molekularne chaperony

#### Summary

Heat shock proteins (Hsps) are a class of proteins with highly conserved amino acid sequences. They are widespread in nature; they are found in archeons, true bacteria and eukaryotic organisms. Hsps from various families, commonly interact to execute essential cellular tasks, such as molecular regulation of newly synthesized protein-folding or restoration of the appropriate conformation of denatured and aggregated proteins. In this review we discuss mechanisms of spatial organization of protein structure mediated by Hsp10, Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp104 (Hsp100) and Hsp110. Interactions between Hsps of different molecular weights are described.

#### Keywords:

heat shock proteins • protein folding • molecular chaperones

\* Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/B/NZ6/03856.

\*\* Doktoranci z dziennego stacjonarnego studium doktoranckiego „Ksenobiotyki oraz biologia czynników zakaźnych i inwazyjnych” na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie (kierownik: prof. dr hab. Marek Niemiałtowski).

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1108406>

**Word count:** 4869

**Tables:** 1

**Figures:** 6

**References:** 105

**Adres autora:** prof. dr hab. Marek Niemiałtowski, Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinikcznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: marek\_niemialtowski@sggw.pl, zbiegniew.wyzewski@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **AAA+** – ATPazy związane z różnymi aktywnościami komórkowymi (ATPases associated with various cellular activities); **AD** – domena o aktywności ATPazy (ATPase domain); **Apg** – białko wiążące ATP i peptyd w komórkach zarodkowych (ATP and peptide binding protein in germ cells); **Bag1** – czynnik 1 przeciwdziałający śmierci związany z Bcl-2 (Bcl-2-associated athanogene 1); **CTD** – C-końcowe miejsce dimeryzacji (C-terminal dimerization site); **FKPB** – białko wiążące FK506 (FK506 binding protein); **Hsc** – konstytutywne Hsp (heat shock constitutive); **HSF** – czynnik szoku cieplnego (heat shock factor); **Hip** – białko oddziałujące z Hsc70 (Hsc70-interacting protein); **Hop** – białko organizujące Hsc/Hsp90 (Hsc/Hsp90-organizing protein); **Hsp** – białko szoku cieplnego (heat shock protein); **HspBP1** – białko 1 wiążące Hsp70 (Hsp70-binding protein 1); **MD** – domena środkowa (middle domain); **NBD** – domena wiążąca nukleotyd (nucleotide binding domain); **NEF** – czynnik wymiany nukleotydów (nucleotide exchange factor); **NTD** – N-końcowa domena wiążąca nukleotyd (N-terminal nucleotide binding domain); **PBD** – domena wiążąca peptyd (peptide binding domain); **SBD** – domena wiążąca substrat (substrate binding domain); **sHsp** – niskocząsteczkowe Hsp (small Hsp); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TPR** – 34-aminokwasowe powtórzenia peptydowe (tetratricopeptide repeats).

*Non nova, sed novae*  
Rzecz nienowa, ale podana w sposób nowy  
Czesław Jędraszko, Łacina na co dzień,  
Nasza Księgarnia – Warszawa 1977

nieoptymalne warunki środowiska, w którym znajduje się organizm. Mogą to być, na przykład, wysoka temperatura i niedobór wody. Nierozpuszczalne agregaty tworzą się również w odpowiedzi na zakażenia wirusowe [13,24,31,104].

## WPROWADZENIE

Białka są syntetyzowane w procesie translacji, zachodzącym na matrycy mRNA. Liniowy układ aminokwasów powstałego polipeptydu jest zależny od sekwencji rybonukleotydowej transkryptu. W wyniku translacji informacja genetyczna ujawnia się w strukturze pierwszorzędowej powstającego białka. Jest to dopiero pierwszy etap sekwencji zdarzeń, prowadzących do otrzymania funkcjonalnego białka. Aminokwasy w polipeptydzie, oddziałując ze sobą na różne sposoby, muszą przyjąć właściwy układ w przestrzeni. Polipeptyd się zwija, organizując w drugo- i trzeciorzędową strukturę. Białko otrzymuje kształt, a dokładniej – przyjmuje określoną konformację. W środowisku wewnątrzkomórkowym nowo zsyntetyzowane polipeptydy mogą się zwinąć w sposób nieprawidłowy. Przestrzenny układ aminokwasów jest wówczas niewłaściwy, pomimo ich poprawnej kolejności w łańcuchu polipeptydowym.

Wadliwa konformacja pozbawia białko aktywności. Źle zwinięte łańcuchy polipeptydowe gromadzą się w komórce w niefunkcjonalnych skupieniach (agregatach). Ich powstawaniu sprzyjają czynniki stresowe –

Organizmy dysponują systemami białek opiekuńczych, które zapobiegają nieprawidłowemu zwijaniu łańcuchów polipeptydowych, odpowiadają również za rozpuszczanie agregatów zdenaturowanych białek, co zapobiega odkładaniu się ich w komórce. Mechanizmy reorganizujące strukturę przestrzenną białek warunkują tolerancję na stres środowiskowe [24,26,29,31].

Białka szoku cieplnego (heat shock protein, Hsp) to klasa białek zachowanych w ewolucji, rozpowszechniona we wszystkich domenach świata ożywionego. Hsp występują u organizmów prokariotycznych (archeonów i bakterii) i eukariotycznych (roślin i zwierząt). W komórkach jądrazstych są obecne w cytosolu, a także w organellach półautonomicznych: mitochondriach i chloroplastach. Hsp to białka, których synteza jest indukowana warunkami szoku cieplnego. Pełnią wiele istotnych funkcji i dlatego ulegają ewolucyjnym zmianom w niewielkim stopniu [21]. Razem tworzą sieciowo powiązany układ o wysokim stopniu złożoności, włączony w przebieg procesów, takich jak: zwijanie nowo zsyntetyzowanych polipeptydów, reorganizacja struktury przestrzennej białek o niewłaściwej konformacji, składanie i demon-taż oligomerów czy degradacja białek [47]. Białka Hsp

mogą zatem pełnić funkcje białek opiekuńczych (molecular chaperones), które z kolei uczestniczą w nadawaniu i odzyskiwaniu natywnej struktury przez inne białka oraz ulegają konstytutywnej, niezależnej od temperatury, ekspresji. Najpowszechniejszym kryterium podziału białek szoku cieplnego jest ich masa cząsteczkowa (kDa), na podstawie której przyporządkowano Hsp do następujących rodzin: Hsp10, sHsp (Hsp o niskiej masie cząsteczkowej), Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp90 i Hsp100 [7,8,32,34,47,49,90,93,99,104,105].

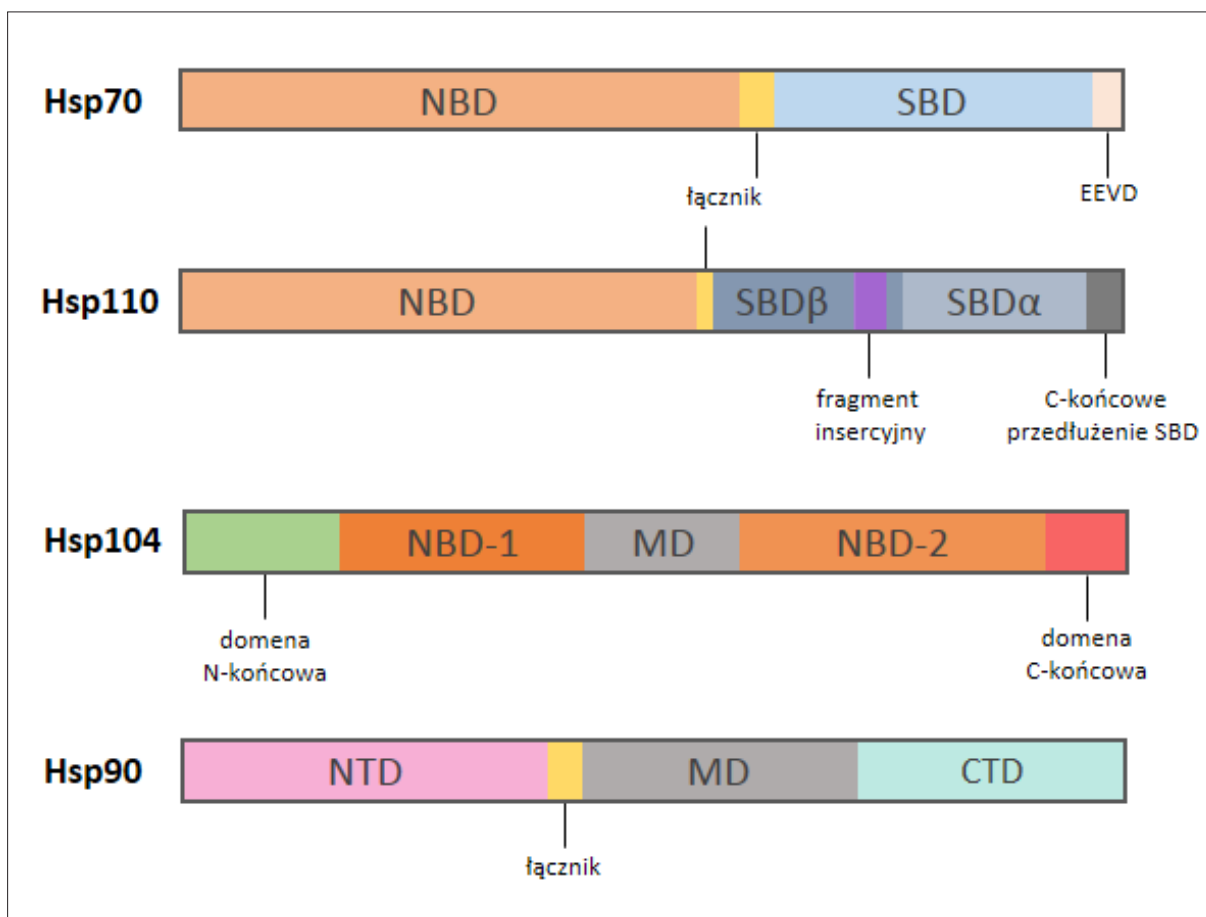
Hsp, organizując strukturę przestrzenną białek, współdziałają ze sobą. Przedmiotem niniejszej pracy są mechanizmy współdziałania, które zachodzą między Hsp o różnych masach cząsteczkowych.

### BUDOWA HSP I ICH ROLA W ZWIJANIU BIAŁEK

Rodzina Hsp70 obejmuje Hsp o najsilniej zachowanej ewolucyjnie sekwencji aminokwasowej i najwyższej wrażliwości temperaturowej spośród wszystkich Hsp [40]. Hsp70 składa się z dwóch głównych domen: C-końcowej, zwanej domeną wiążącą peptyd (peptide binding domain, PBD) lub domeną wiążącą substrat (substrate binding domain, SBD) i N-końcowej, o aktywności

ATPazy (ATPase domain, AD), nazywanej też domeną wiążącą nukleotyd (nucleotide binding domain, NBD) [3,33,75,85]. NBD składa się z czterech podjednostek: IA, IB, IIA i IIB. Tworzy zagłębienie, będące miejscem wiązania ATP. SBD jest zbudowana z dwóch podjednostek: SBD $\beta$  i SBD $\alpha$ , bogatych odpowiednio w struktury  $\beta$ -kardki i  $\alpha$ -helisy. SBD $\beta$  zawiera kieszeń wiążącą polipeptyd. SBD wykazuje powinowactwo do hydrofobowych sekwencji aminokwasowych, ekspozowanych przez niewłaściwie zwinęte białka [15]. Pomiędzy NBD i SBD znajduje się elastyczny łącznik. Na C-końcu cząsteczki Hsp70 występuje motyw EEDV, który pełni istotną funkcję we współdziałaniu Hsp70 z niektórymi kofaktorami (ryc. 1) [39,87].

Białka z rodziny Hsp70 występują w cytoplazmie, mitochondriach i chloroplastach. Hsp70 uczestniczą w procesach organizacji struktury przestrzennej białek. Odpowiadają za zwijanie i składanie nowo zsyntetyzowanych białek oraz za znoszenie nieprawidłowych zmian przestrzennych w zdenaturowanych i zagregowanych białkach. Hsp70 pełnią powyższe funkcje, oddziałując z hydrofobowymi fragmentami peptydowymi białek w procesie zależnym od ATP. Hsp70 odgrywają również rolę prewencyjną, zapobiegając denaturacji i agregacji



**Ryc. 1.** Budowa (A) Hsp70, (B) Hsp110, (C) Hsp104, (D) Hsp90. NBD – domena wiążąca nukleotyd; SBD – domena wiążąca substrat; MD – domena środkowa; NTD – N-końcowa domena wiążąca nukleotyd; CTD – C-końcowa domena (adaptacja własna wg [12,44,46,87])

białek w komórce. Kolejną funkcją Hsp70 jest demontaż kompleksów białkowych, takich jak płaszcz klatrynowy czy kapsydy wirusowe [21,47].

Hsp70 kontroluje biologiczną aktywność wielu białek regulatorowych, przejściowo się z nimi wiążąc. Do takich białkowych regulatorów należą receptory hormonów steroidowych, kinazy i czynniki transkrypcyjne, a wśród tych ostatnich – czynnik szoku cieplnego (heat shock factor, HSF). Hsp70 uczestniczy w przebiegu procesów związanych z transdukcją sygnałów, regulacją cyklu komórkowego, różnicowaniem i programowaną śmiercią komórki [48].

Hsp70 ulega wzmożonej syntezie w odpowiedzi na rozmaite czynniki stresowe, przeciwdziałając ich szkodliwym skutkom. Odpowiada za tolerancję na stres temperaturowy. Wytwarzanie Hsp70 w komórkach ssaków zwiększa się również w odpowiedzi na hipoksję, miejscowe niedokrwienie, zakwaszenie płynów ustrojowych, promieniowanie ultrafioletowe i cytokiny – między innymi czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor, TNF) [40].

Aktywność Hsp70 jest regulowana przez kofaktory. Hsp40 odgrywa główną rolę w komórce jako białko współdziałające z Hsp70 [64,76,88]. Białka z rodziny Hsp40 zawierają domenę J, za pomocą której wiążą się z NBD [82,88]. Domena J najczęściej jest usytuowana w regionie N-końcowym białka. Składa się z siedemdziesięciu reszt aminokwasowych, układających się w cztery helisy i jedną pętlę, zawierającą trójępeptydowy motyw histydynowo-prolinowo-asparaginianowy (HPD). Pętla znajduje się między II i III helisą. W białkach z rodziny Hsp40 występują inne regiony zachowane ewolucyjnie, co stanowi podstawę do podziału Hsp40 na trzy grupy. Pierwszą charakteryzują powtórzenia reszt cysteinowych; zarówno pierwszą, jak i drugą grupę – region bogaty w glicynę i fenyloalaninę. W przypadku trzeciej, powyższe charakterystyczne układy aminokwasów nie występują: Hsp40 nie zawiera powtórzeń reszt cysteinowych, ani regionu bogatego w glicynę i fenyloalaninę. Różnice w strukturze aminokwasowej przekładają się na funkcjonalność białka. Hsp40 z grupy pierwszej i drugiej mogą wiązać substrat w innym stanie niż natywny, natomiast te z trzeciej – nie wykazują opisanej zdolności [4,36,64,83]. Rycina 2 przedstawia cztery domeny bakteryjnego Hsp40 (DnaJ) z grupy pierwszej: domenę J, region bogaty w glicynę i fenyloalaninę, powtórzenia cysteinowe i niescharakteryzowany region C-końcowy [27]. Hsp40 współdziała z Hsp70 w wypełnianiu jego biologicznych funkcji w komórce. W związku z tym odgrywa główną rolę w procesach translacji, zwijania, rozwijania, transportu i degradacji białek [92].

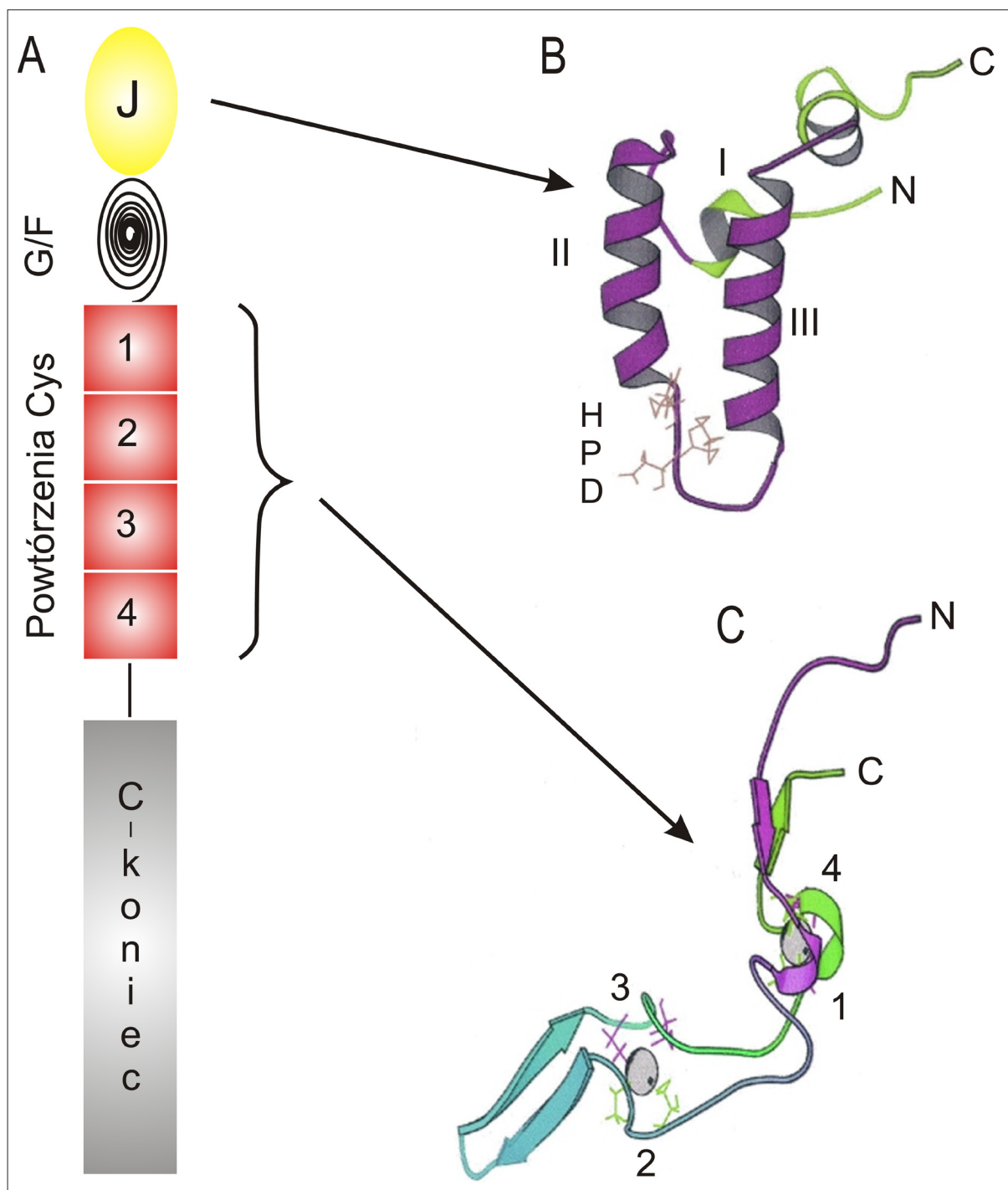
Hsp110 jest zbudowane z dwóch domen, występujących u Hsp70: N-końcowej o aktywności ATPazy (NBD) i C-końcowej (SBD). SBD zawiera dodatkowe sekwencje aminokwasowe o różnej długości, nieobecne we fragmencie C-końcowym Hsp70, w tym fragment insercyjny

w SBD $\beta$  (ryc. 1). Hsp110 występujące w cytoplazmie komórek eukariotycznych, współdziała z Hsp70, jak również reguluje jego aktywność. Hsp110 bierze udział w procesie wymiany nukleotydów związanych z NBD Hsp70 [15,16,80,97].

Hsp104 należy do rodziny białek Hsp100 i do nadrodziny ATPaz związanych z różnymi aktywnościami komórkowymi (ATPases associated with various cellular activities, AAA+) [2,5,17]. Hsp104 składa się z domeny N-końcowej, dwóch domen AAA+, które wiążą i hydrolizują ATP (NBD1 i NBD2), domeny środkowej (middle domain, MD), usytuowanej między NBD1 i NBD2 i C-końcowej domeny, nieobecnej u bakteryjnego homologu Hsp104 – ClpB (ryc. 1). Podjednostki Hsp104 organizują się w heksamer w kształcie pierścienia ze środkowym kanałem i zewnętrznie umiejscowioną MD [20,91]. Obie NBD wiążą i hydrolizują ATP. Związanie ATP przez te domeny stabilizuje heksamer i oddziaływanie Hsp104 z substratem. Z kolei hydroliza ATP dostarcza energii do reorganizacji struktury przestrzennej białka. Domeny AAA+ zawierają motywy Walkera A i B, motywy czujnikowe 1 i 2 oraz pętlę z zachowaną ewolucyjnie resztą tyrozynową (pore loop). Motyw Walkera A zawiera pętlę P oddziałującą bezpośrednio z resztami fosforanowymi ATP. Motyw Walkera B odpowiada za kontakt domen NBD z ATP, jonami magnezu oraz wodą i w związku z tym za efektywną hydrolizę ATP. Motywy sensorowe oddziałują z resztą fosforanową ATP w pozycji  $\gamma$ . Pętla z zachowaną ewolucyjnie resztą tyrozynową jest zaangażowana w wiązanie i przemieszczanie substratu. MD jest utworzona z pęczka czterech helis. Zawiera również tylną pętlę, uczestniczącą w regulacji aktywności Hsp104 w rozpuszczaniu agregatów białkowych. Domena C-końcowa składa się z 38 reszt aminokwasowych, odgrywa rolę w heksameryzacji Hsp104. Jej obecność nadaje białku oporność temperaturową [14,23,57,86].

Hsp104 to białko opiekuńcze uczestniczące w dekompozycji agregatów białkowych, w tym struktur amyloidowych w komórkach drożdży. Homologiem Hsp104 u bakterii jest białko ClpB, odbiegające jednak właściwościami i zakresem skuteczności od swojego eukariotycznego odpowiednika. ClpB uczestniczy w rozpuszczaniu nieuporządkowanych, amorficznych agregatów. Jest jednak nieefektywne wobec struktur amyloidowych. U zwierząt wielokomórkowych (*Metazoa*) nie rozpoznano białek homologicznych do Hsp104. Ich powszechna synteza natomiast charakteryzuje królestwa grzybów, roślin i bakterii [11,14,65,79,80].

Hsp90 to białko opiekuńcze występujące u organizmów należących do *Eubacteria* i *Eucaryota*. Umiejscowione są w cytoplazmie, a w mitochondriach i retikulum endoplazmatycznym wykryto ich homologi: Trap-1 i Grp94. Hsp90 i ich homologi są zbudowane z N-końcowej domeny wiążącej nukleotydy (N-terminal nucleotide binding domain, NTD), domeny środkowej (MD) i C-końcowego miejsca dimeryzacji (C-terminal dimerization site, CTD) (ryc. 1). W rejonie NTD znajduje się kieszeń



**Ryc. 2.** Strukturalne motywy obecne w DnaJ (Hsp40 występującym u bakterii *Escherichia coli*). (A) Domeny Dna J: J-domena J; G/F – region bogaty w glicynę i fenyloalaninę. (B) Domena J: HPD – motyw histydynowo-prolinowo-asparaginianowy; I, II, III, IV – kolejne helisy składające się na domenę J. (C) Powtórzenia cysteinowe: 1, 2, 3, 4 – kolejne powtórzenia reszt cysteinowych (adaptacja własna wg [27])

wiążąca ATP, która w cyklu zwijania polipeptydu jest zamykana przez krótki fragment NBD, tzw. „pokrywkę” (lid). Aktywność ATPazy napędza cykl otwierania i zamykania struktury tworzonej przez cząsteczki Hsp90 w dimerze, tzw. „molekularnych kleszczy”. Związanie ATP inicjuje ich zamknięcie, a hydroliza ATP – otwarcie. Cykl wiązania i hydrolizy ATP ma w związku z tym

główne znaczenie dla funkcjonalności dimeru w zwijaniu polipeptydów. W NBD znajduje się również miejsce uczestniczące w wiązaniu substratu [46,63,70,71,102]. Z MD łączy się kofaktor. CTD odpowiada za dimeryzację Hsp90 i w związku z tym za zwiększenie efektywności hydrolizy ATP. Aktywność ATPazy NTD jest większa, gdy NTD dwóch cząsteczek Hsp90 są zbliżone w dime-

rze [18,63,103]. Prodromou i wsp. wykazali, że pozbawienie Hsp90 domeny C-końcowej powoduje około 5-krotny spadek aktywności ATPazy [63].

Hsp90 zapobiegają ujawnianiu mutacji genetycznych w fenotypie komórki, wchodząc w interakcje z polipeptydami, które powstają w następstwie mutacji w genomie. Oddziaływanie z Hsp90 promują ich prawidłowe związanie do aktywnej postaci [67]. Dlatego gdy inne białka opiekuńcze wykazują powinowactwo do białek niewłaściwie sfałdowanych, substratami dla Hsp90 są białka o konformacji zbliżonej do natywnej [61].

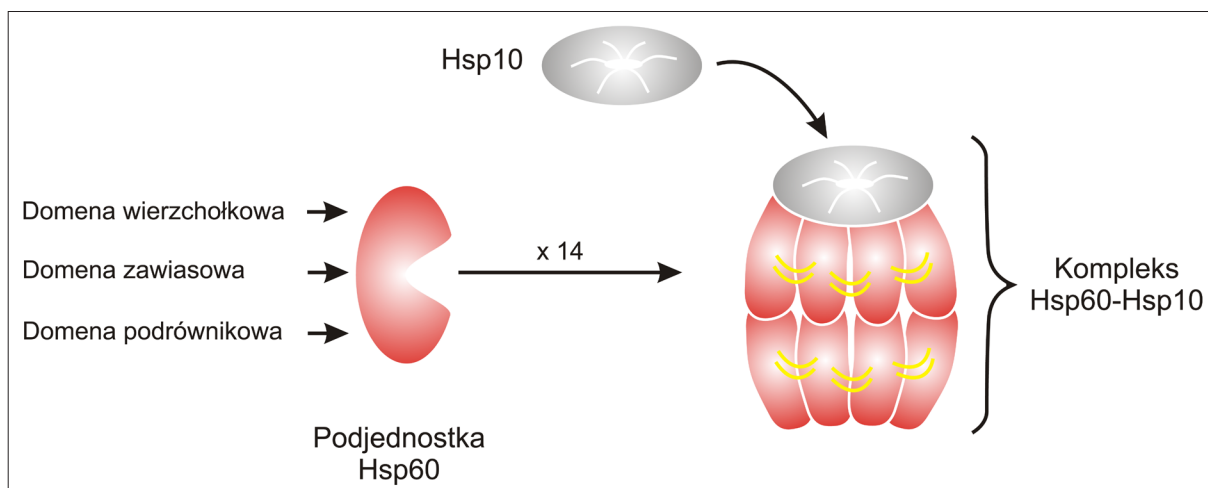
Hsp60 jest zbudowane z trzech domen: wierzchołkowej, środkowej i podrównikowej (ryc. 3). Domena wierzchołkowa zawiera miejsca wiążące polipeptydy i kofaktor – Hsp10. Domena środkowa stanowi funkcjonalny zawias, odpowiedzialny za konformacyjne zmiany Hsp60 w cyklu fałdowania polipeptydów. Domena podrównikowa ma aktywność ATPazy: zawiera w swojej wierzchołkowej części kieszeń wiążącą ATP z zachowaną w ewolucji resztą asparaginianową w pozycji 87 [41,59,66]. Podjednostki o masie 60 kDa łączą się ze sobą w heptameryczne kompleksy w kształcie pierścieni. Pierścienie mogą się ze sobą wiązać, tworząc strukturę baryłki, złożonej z czterech podjednostek. Hsp60 łączy się ze strukturą utworzoną z Hsp10 (ryc. 3) [30,59].

Podjednostka Hsp10 jest zbudowana z pojedynczej domeny, zawierającej dwie wysunięte pętle, które tworzą strukturę spinki do włosów (hairpin). Monomery Hsp10 organizują się w heptamer w kształcie kopuły (ryc. 3). W heptamerze struktury spinek do włosów siedmiu złączonych monomerów schodzą się ze sobą na szczycie kopuły, zamykając jej sklepienie. Nieustrukturyzowany, krótki region zwany ruchomą pętlą, może się wysuwać z jednej z siedmiu podjednostek heptameru, z dolnej krawędzi kopuły. Ruchoma pętla jest zachowana w ewolucji i odgrywa istotną rolę w oddziaływaniach

Hsp10 i Hsp60. Zawiera trójpetyd złożony z następujących reszt aminokwasów hydrofobowych: reszty izoleucynowej, walinowej i leucynowej w pozycjach 25, 26 i 27. Dzięki temu pętla może się wiązać z komplementarnym regionem hydrofobowym Hsp60 [41].

U bakterii występuje homolog Hsp60 – GroEL i Hsp10 – GroES. W komórkach bakterii system GroEL/GroES wiąże łańcuchy polipeptydowe i stwarza im właściwe środowisko do przyjęcia prawidłowej struktury przestrzennej, samemu ulegając zmianom konformacyjnym, zależnym od wiązania i hydrolizy ATP [31,66,68,94,100]. W komórkach eukariotycznych, Hsp60 i Hsp10 również odpowiadają za poprawne związanie nowo zsintetyzowanych łańcuchów polipeptydowych.

Mitochondrialne Hsp60 kontroluje fałdowanie białek transportowanych do mitochondrium z cytoplazmy, przeciwdziała również skutkom stresu temperaturowego, zapobiegając denaturacji białek mitochondrialnych [59]. Odkryto także cytosolową wersję Hsp60 [43]. Cytoplazmatyczne Hsp60 w komórkach ssaków zawiera 26-aminokwasową sekwencję sygnałową na N-końcu, nie występującą w strukturze pierwszorzędowej mitochondrialnej wersji tego białka. W pewnych okolicznościach, na przykład w warunkach stresowych wywołanych odwodnieniem, Hsp60 jest sprawnie transportowane z cytoplazmy do mitochondriów. Istotną rolę w powyższym procesie odgrywa N-końcowa sekwencja sygnałowa Hsp60. W prawidłowych warunkach Hsp70 jest związane z N-końcem Hsp60. Na skutek odwodnienia w cytoplazmie gromadzą się agregaty zdenaturowanych białek, a Hsp70 dysocjuje od sekwencji sygnałowej Hsp60 i łączy się z nimi jako białko opiekuńcze. Hsp60 z uwolnionym N-końcem może zostać przetransportowane do mitochondrium, gdzie pełni funkcję białka opiekuńczego [31]. Tabela 1 przedstawia białka Hsp pełniące funkcje białek opiekuńczych, które współdziałają ze sobą w organizowaniu struktury przestrzennej innych białek.



Ryc. 3. Kompleks Hsp60-Hsp10 (adaptacja własna wg [66])

## WSPÓŁDZIAŁANIE Hsp70 i Hsp40

Hsp40 stymuluje aktywność ATPazy Hsp70. Hydroliza cząsteczki ATP pociąga za sobą konwersję Hsp70 ze stanu otwartego do postaci zamkniętej. Powyższe zmiany konformacyjne zachodzą w cyklu, którego przebieg regulują kofaktory: jednym z nich jest Hsp40. Stabilizuje ono oddziaływanie między Hsp70 a ich substratami, stymulując hydrolizę ATP [64]. Proces ten może być pobudzany przez domenę J Hsp40 lub przez samo białko, którego struktura przestrzenna jest poddawana reorganizacji [92].

System, na który składają się Hsp70 i Hsp40 wraz z czynnikiem wymiany nukleotydów (nucleotide exchange factor, NEF) – GrpE odpowiada za nadawanie białkom prawidłowej struktury przestrzennej [6,74]. Mechanizm współdziałania bakteryjnego Hsp40 (DnaJ) z Hsp70 (DnaK) jest podobny do tego, który funkcjonuje w komórkach eukariotycznych. Prokariotyczne Hsp40 pobudza aktywność ATPazy Hsp70 [64].

Mechanizm przywracania właściwej struktury przestrzennej został dobrze opisany u *Escherichia coli*. Hsp40 łączy się z nieprawidłowo zwiniętym białkiem. Następnie domena J Hsp40 wiąże się swoją dodatnio naładowaną helisą II z ujemnie naładowaną pętlą NBD Hsp70. Substrat zostaje częściowo przekazany na domenę SBD. Hydroliza ATP powoduje zmiany konformacyjne białka opiekuńczego, w wyniku czego substrat zostaje silniej związany przez Hsp70 i aktywnie rozwinięty. W następnym etapie ważną rolę odgrywa czynnik GrpE, odpowiedzialny za wymianę ADP na ATP, które przyłączając się do SBD, odwraca zmiany przestrzenne Hsp70 i zmniejsza jego powinowactwo do związanego białka. Rozwinięty substrat zostaje uwolniony z kompleksu i ulega poprawnemu sfałdowaniu [1,22,52].

Początkowe etapy procesu naprawy białka o niewłaściwej konformacji, zachodzącego z udziałem systemu obejmującego Hsp70, Hsp40 i GrpE, mogą przebiegać w odmienny sposób. Wówczas Hsp40 nie prezentuje niewłaściwie sfałdowanego białka Hsp70, lecz łączy się z gotowym kompleksem Hsp70-substrat. Sposób zapoczątkowania procesu naprawy białka zależy od sekwen-

cji aminokwasowej błędnie zwiniętej cząsteczki [27]. Odmienne substraty wymagają w procesie rozwijania swoich łańcuchów udziału różnych białek z rodziny Hsp40 [50]. Tymczasem domena SBD Hsp70 wykazuje mechaniczną elastyczność, umożliwiającą związanie i poddanie naprawie wielu różnorodnych białek [72].

Hsp70 niepołączone z Hsp40 wykazuje niską aktywność hydrolityczną względem ATP. Podobnie, zdolność wiązania i wymiany nukleotydu we współdziałaniu z Hsp40 jest znacznie wyższa niż wówczas, gdy współdziałanie nie zachodzi. Na aktywność ATPazy u bakterii dodatkowo wpływa również GrpE, którego obecność powoduje podniesienie intensywności wymiany ADP na ATP. GrpE stymuluje dysocjację ADP, które odłącza się od NBD, zwalniając miejsce dla ATP [27,82].

U bakterii odłączenie substratu od kompleksu z Hsp70 i Hsp40 w wyniku hydrolizy ATP i zmian konformacyjnych w SBD powoduje jego poprawne sfałdowanie. Jest to jednak tylko jedno ze zdarzeń, które mogą nastąpić po uwolnieniu substratu z kompleksu. Niekiedy substrat ponownie wiąże się z Hsp70 i otrzymuje właściwą strukturę przestrzenną w kolejnym cyklu hydrolizy i wymiany ATP. Odłączone białko może również utworzyć kompleks z innym systemem, który koordynuje zwijanie białka – np. GroEL/GroES (homolog Hsp60/Hsp10) [27].

U organizmów eukariotycznych współdziałanie Hsp70 i Hsp40 w procesie znoszenia niepoprawnych zmian konformacyjnych źle zwiniętego substratu przebiega w ogólnym zarysie w taki sposób, jak współdziałanie Hsp70 i Hsp40 u bakterii. Jedną z różnic w mechanizmie rozwijania białka dotyczy czynnika wymiany nukleotydów. W cytoplazmie komórek jądrazstych nie wykryto białka homologicznego do GrpE [73], natomiast rozpoznano jego homologi w mitochondrium [27]. Cytoplazmatyczne czynniki wymiany nukleotydów (Bag1 i HspBP1) różnią się od GrpE strukturą, a w związku z tym i sposobem, w jaki pełnią swoją funkcję [35,78]. HspBP1 w procesie wymiany nukleotydu obejmuje swoją wklęsłą powierzchnią płat II NBD Hsp70 i wywołuje przemieszczenie płatu I NBD, co powoduje zmniejszenie powinowactwa domeny do ADP. Tymczasem mechanizm

**Tabela 1.** Hsp jako białka opiekuńcze współdziałające w reorganizacji struktury przestrzennej innych białek [14,15,30,64,68]

| Współdziałające białka opiekuńcze |             | Funkcja białka II                                                                                                                              |
|-----------------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I                                 | II          |                                                                                                                                                |
| Hsp70                             | Hsp40       | Pobudzanie aktywności ATPazy Hsp70                                                                                                             |
| Hsp70                             | Hsp110      | Pobudzanie wymiany nukleotydów w NBD Hsp70; synergistyczna aktywność opiekuńcza w zwijaniu białek wielodomenowych                              |
| Hsp104                            | Hsp70/Hsp40 | Udział w rozpoznawaniu substratu; koordynacja hydrolizy ATP w domenach AAA+; kontrola renaturacji polipeptydów rozwiniętych przez Hsp104       |
| Hsp90                             | Hsp70/Hsp40 | Rozpoznawanie substratu, jego wiązanie i przekazywanie na Hsp90                                                                                |
| Hsp60                             | Hsp10       | Zamykanie polipeptydu we wgłębieniu pierścienia Hsp60; wywoływanie zmian konformacyjnych w Hsp60, warunkujących poprawne zwinięcie polipeptydu |

działania GrpE opiera się na indukcji zmian konformacyjnych w płacie II NBD Hsp70 [78].

W komórkach eukariotycznych współdziałanie Hsp70 i Hsp40 można rozpatrywać w kontekście sieciowo powiązanych szlaków fałdowania białek, regulowanych przez kofaktory. Jedną z cząstek pełniących funkcję kontrolną jest Hip (Hsc70-interacting protein), który po hydrolizie ATP wiąże się z kompleksem Hsp70-substrat, stabilizując jego strukturę przestrzenną. Jednocześnie przez utrwalenie postaci Hsp70 związanej z ADP, białko Hip przerywa cykl zmian konformacyjnych organizujących strukturę przestrzenną białka [27,97].

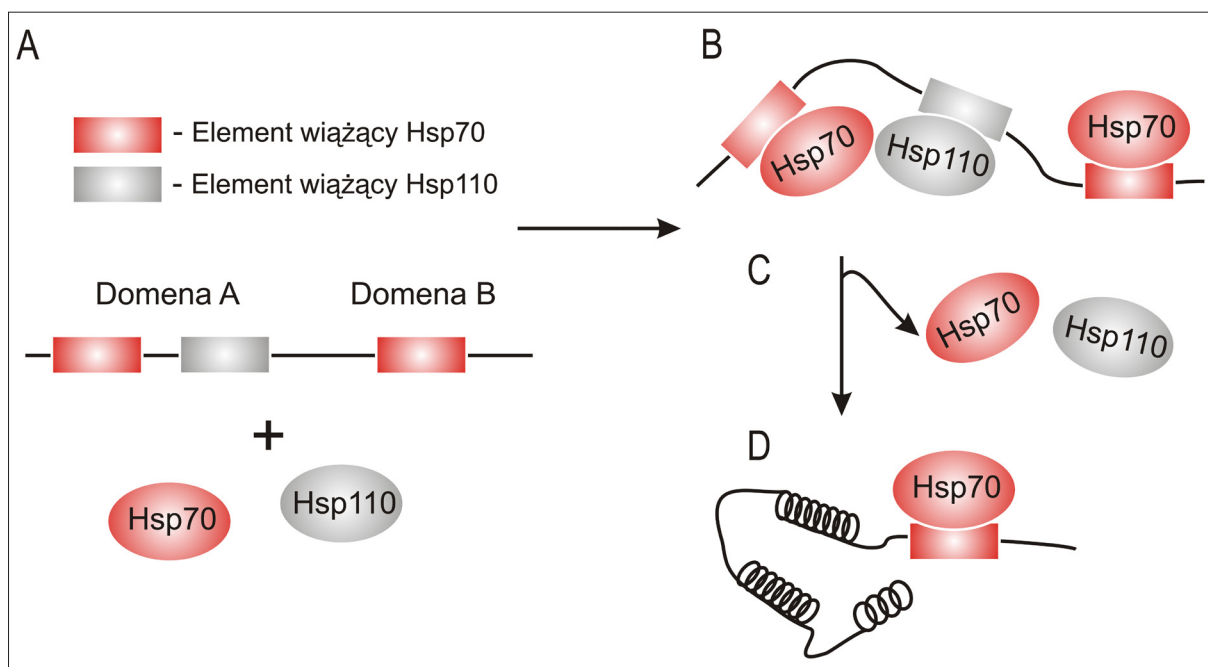
### WSPÓŁDZIAŁANIE HSP110 I HSP70

Hsp110 biorą udział w rozpuszczaniu agregatów zdenaturowanych białek. Zmiany w strukturze przestrzennej białek, wywołane czynnikami chemicznymi lub termicznymi, mogą zostać odwrócone przez komórkową aparaturę białkową, w skład której, oprócz Hsp70 i Hsp40, wchodzi również Hsp110. Powyższy system przywraca białkom natywną strukturę, na skutek czego powracają one do rozpuszczalnej frakcji cytosolu. Efektywnie i specyficznie likwiduje agregaty amorficzne i nieuporządkowane, chociaż pozostaje nieskuteczny wobec struktur amyloidowych [80].

Hsp110 i Hsp70, współdziałając ze sobą, nadają prawidłową strukturę przestrzenną białkom o budowie wielodomenowej. Niesfałdowane domeny mogą ze sobą

oddziaływać, w wyniku czego białka związają się nieprawidłowo i skupiają w agregaty. Hsp110 zapobiega powyższym zdarzeniom, kontrolując proces fałdowania we współdziałaniu z Hsp70. Hsp110 funkcjonuje jako NEF, wpływając na podniesienie aktywności ATPazy NBD Hsp70. Hsp110 pełni zarazem funkcję białka opiekuńczego. Hsp70 i Hsp110 wiążą się z niesfałdowanym substratem, by następnie wspólnie się od niego odłączyć. Pociąga to za sobą zwiniecie określonej domeny białka w oderwaniu od pozostałych, które mogą być związane z samym Hsp70 [15,68]. Sekwencja zdarzeń kontrolowanych przez Hsp70 we współdziałaniu z Hsp110, prowadząca do przyjęcia prawidłowej konformacji przez białko, została przedstawiona na ryc. 4.

Poznano wiele homologów białka Hsp110. W komórkach ssaków występują Hsp110 (Hsp105) oraz białka wiążące ATP i peptyd w komórkach zarodkowych (ATP and peptide binding protein in germ cells, Apg) 1 i 2, a w drożdżowych – Sse1p i Sse2p [15,58,96,101]. Sse1p współdziała z drożdżowym ortologiem Hsp70 Ssa1p. Sse1p funkcjonuje jako NEF, a zatem odpowiada za efektywność procesu zastępowania ADP przez ATP oraz związaną z tym dynamikę zmian konformacyjnych Hsp70 (Ssa1p) w cyklu organizującym strukturę przestrzenną substratu. Badania wykazały, że obie domeny Sse1p, zarówno C-końcowa, jak i N-końcowa (o aktywności ATPazy) warunkują pełnienie opisanej funkcji przez to białko. Przyłączenie ATP do domeny N-końcowej Sse1p pociąga za sobą konformacyjne zmiany, umożliwiające związanie Sse1p ze wspomaganym Ssa1p. Znacze-



**Ryc. 4.** Mechanizm fałdowania białka z udziałem Hsp70 i Hsp110. (A) Niesfałdowane białko ma dwie domeny, z których jedna (domena A) zawiera zarówno element wiążący Hsp70, jak i element wiążący Hsp110, a druga (domena B) tylko element wiążący Hsp70. (B) Z domeną A wiążą się dwa białka – Hsp70 i Hsp110, a z domeną B tylko jedno – Hsp70. (C) Hsp110 i Hsp70 odłączają się wspólnie od domeny A. (D) Domena A uległa prawidłowemu sfaldowaniu, tymczasem domena B pozostaje związana z Hsp70 (adaptacja własna wg [15])

nie domeny C-końcowej dla aktywności Sse1p pozostaje niewyjaśnione. Badania wykazały, że Sse1p pozbawione C-końcowej domeny na skutek delekcji nie pełnią funkcji czynnika wymiany nukleotydów. Aktywność NEF zostaje całkowicie utracona wraz z C-końcem Sse1p [15].

W sprzyjających warunkach środowiskowych, w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae* dominującym homologiem Hsp110 jest Sse1p. Tymczasem synteza Sse2p zostaje uruchomiona w odpowiedzi na czynniki stresowe. Jest indukowana w warunkach szoku cieplnego. Sse2p cechuje się wysoką stabilnością temperaturową w porównaniu z Sse1p. W warunkach stresowych Sse2p zastępuje Sse1p w roli NEF [62].

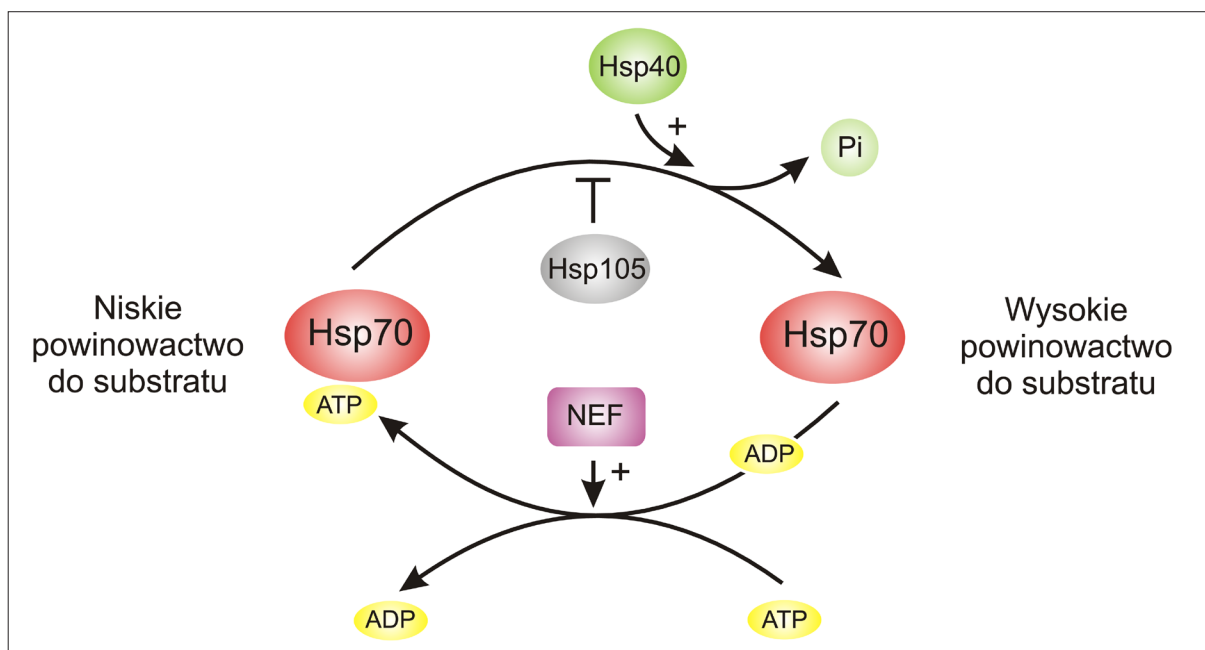
Zbadany został wpływ zmian temperatury na poziom transkrypcji genu *apg-1*, kodującego Apg-1. W komórkach rozrodczych myszy transkrypty były syntetyzowane w sposób ciągły, co potwierdziło przypuszczenie, że Apg-1 odgrywa istotną rolę w procesie spermatogenezy. Badania na liniach komórek podporowych kanałika nasiennego (komórek Sertolego) wykazały wpływ wzrostu temperatury otoczenia z 32 do 39°C na transkrypcję genu *apg-1*. Indukcja ekspresji nastąpiła po upływie dwóch godzin od chwili zadziałania stresu cieplnego. Profil transkrypcyjny w odpowiedzi na podniesienie temperatury był podobny w przypadku białek Apg-1 i Hsp110 (Hsp105). Uruchomienie transkrypcji genu *apg-1* w powyższych warunkach wskazuje na jego udział w odpowiedzi na stres cieplny [37]. W somatycznych komórkach myszy transkrypcja genów kodujących Apg-1 i Hsp110 (Hsp105) jest uruchamiana w odpowiedzi na wzrost temperatury od 32 do 39°C. Natomiast synteza

Apg-2, w przeciwieństwie do Hsp110 (Hsp105) i Apg-1, nie jest indukowana cieplnie [95].

Hsp105α pełni funkcję negatywnego regulatora cyklu fałdowania źle zwiniętych białek, zależnego od hydrolizy i wymiany ATP. Hsp105α jest inhibitorem ATPazy Hsp70, a w związku z tym supresorem aktywności opiekuńczej Hsp70. Supresor zapobiega hydrolizie cząsteczki ATP, a przez to zmianom konformacyjnym białka opiekuńczego, których zajście doprowadziłoby do silniejszego związania substratu przez NBD i w konsekwencji jego rozwinięcia (ryc. 5). Zatem, Hsp105α przerywa cykl przemian prowadzących do prawidłowego sfałdowania zdenaturowanego białka [97].

Hsp105α jest konstytutywnie syntetyzowany w komórce, ale jego synteza wzrasta w warunkach stresowych. W warunkach szoku cieplnego, wywołanego podniesieniem temperatury do 42°C następuje alternatywne składanie transkryptu (splicing) i synteza Hsp105β (drugiej izoformy Hsp105). Hsp105α i Hsp105β mogą przejąć funkcję Hsp70 i zapobiegać gromadzeniu się w cytoplazmie agregatów zdenaturowanych białek w warunkach stresu wyrażonego istotnym spadkiem poziomu cytosolowego ATP w komórce [97].

Pomiędzy domeną N-kończową i C-kończową obu postaci Hsp105 znajdują się dwie struktury: β-kartki i pętli. Za pośrednictwem tej pierwszej Hsp105 wiąże zdenaturowane białka i zapobiega ich agregacji w cytosolu. Swoją funkcję pełni jednak przede wszystkim w warunkach wysokiego poziomu ADP i niskiego poziomu ATP w komórce. Tymczasem aktywność opiekuńcza Hsp70



**Ryc. 5.** Model regulacji systemu fałdowania białek przez Hsp105. Hsp70 związane z ADP wykazuje wysokie powinowactwo do substratu. Z udziałem NEF ADP zostaje zastąpione przez ATP, co wywołuje zmiany konformacyjne Hsp70, skutkujące obniżeniem powinowactwa. Hsp105, hamując aktywność ATPazy Hsp70, przeciwdziała hydrolizy ATP i zamknięciu cyklu (adaptacja własna wg [97])

wobec zdenaturowanych białek jest obserwowana w warunkach przewagi ATP nad ADP [98].

Hsp105α działa jako inhibitor aktywności opiekuńczej Hsp70 wobec zdenaturowanych białek, hamując aktywność ATPazy Hsp70. Powyższej supresji towarzyszy uruchomienie ATPazy Hsp105α. Domena N-końcowa i C-końcowa, a także struktura β-kartki wchodzi w interakcje z Hsp70. Wszystkie domeny Hsp70 biorą udział w jego wiązaniu z Hsp105α [97].

### WSPÓŁDZIAŁANIE HSP104 (HSP100) I HSP70/HSP40

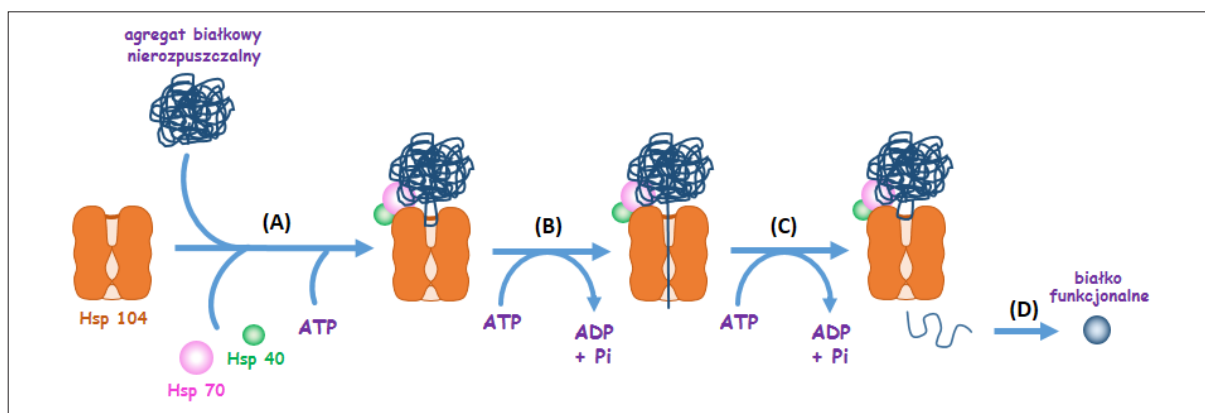
Hsp104 może zwiększyć przeżywalność drożdży narażonych na stresy środowiskowe, nawet 10000-krotnie [60,79]. Drożdżowe Hsp104 pełni dwie zasadnicze funkcje w komórce. Po pierwsze, współdziała z Hsp70 i Hsp40 w naprawie skutków stresu środowiskowego, na przykład temperaturowego przez rozpuszczenie agregatów białkowych o nieuporządkowanej, amorficznej strukturze i przywrócenie właściwej struktury i funkcji tworzącym je białkom [11,19]. Badania wykazały, że N-końcowy odcinek helisy 2 MD obejmujący 12 reszt aminokwasowych (477-488 aa) przejściowo wiąże Hsp70. Mutacja powodująca zamianę trzech reszt lizyny w pozycjach 480, 481 i 482 na reszty alaniny lub glutaminianu hamuje rozpuszczanie agregatów białkowych przez Hsp104 we współdziałaniu z Hsp70/Hsp40. System Hsp70/Hsp40, współdziałając z Hsp104, łączy się z nim i prezentuje mu nieuporządkowane regiony wewnątrzkomórkowych agregatów. Hsp104 wiąże nieustrukturyzowane pętle lub końce substratu, rozpoznając go. Związanie ATP w NBD stabilizuje heksamer i oddziaływania Hsp104 ze źle zwiniętym polipeptydem. Hydroliza ATP zapoczątkowuje zmiany struktury przestrzennej Hsp104, w wyniku których pętle z zachowaną ewolucyjnie resztą tyrozynową przemieszczają się i zaczynają bezpośrednio oddziaływać z polipeptydem. Nieuporządkowane regiony, rozpoznawane przez Hsp104, zostają wprowadzone do centralnego kanału jako pierwsze. Substrat jest przecią-

gany przez kanał z wykorzystaniem energii z hydrolizy ATP i ulega równoczesnemu rozwinięciu. Jego uwolnienie również wymaga hydrolizy ATP. Liniowy polipeptyd spontanicznie przyjmuje prawidłową strukturę przestrzenną bądź jego renaturacja zachodzi z udziałem białek opiekuńczych, wśród których może się znajdować system Hsp70/Hsp40 (ryc. 6). Hsp70/Hsp40 ponadto współdziała z Hsp104, koordynując proces hydrolizy ATP w domenach AAA+ Hsp104 i tym samym usprawniając pozyskanie energii niezbędnej do rozpuszczania wewnątrzkomórkowych agregatów [14,42].

W regulacji aktywności Hsp104 w procesie rozwijania polipeptydu istotną rolę odgrywa tylna pętla, umiejscowiona w strukturze Hsp104 pomiędzy helisą 1 i helisą 2 MD tego białka. Tylna pętla Hsp104 jest odpowiedzialna za wewnątrzcząsteczkowe oddziaływanie MD z NBD2. Kontakt tych dwóch domen powoduje zahamowanie aktywności Hsp104 w rozpuszczaniu agregatów białkowych. Natomiast, gdy MD i NBD2 oddalają się od siebie, Hsp104 odzyskuje aktywność [12].

Hsp104 pełni również drugą zasadniczą funkcję. Ma zdolność rozpuszczania stabilnych, uporządkowanych włókien amyloidowych, wobec których inne Hsp okazują się nieskuteczne [80]. W komórkach drożdży odpowiada za dekompozycję fibrylli, tworzonych przez białka prionowe Sup35 i Ure2. Powyższa aktywność wymaga hydrolizy ATP, katalizowanej przez domeny ATPazowe Hsp104 [81]. Hsp104 specyficznie rozpoznaje strukturę poprzeczną β-kartki (stabilizującą włókno amyloidowe) i dokonuje jej demontażu [79].

W związku z powyższym Hsp104 odgrywa istotną rolę w dziedziczeniu fenotypu prionowego u drożdży. W komórkach *Saccharomyces cerevisiae* białko Sup35 ulega konformacyjnym zmianom do prionowej postaci [PSI<sup>+</sup>]. Zarówno niedobór, jak i nadmiar Hsp104 uniemożliwia efektywne przekazanie prionów do komórek potomnych. Niski poziom Hsp104 wiąże się z powstawa-



**Ryc. 6.** Współdziałanie Hsp104 z systemem Hsp70/Hsp40 w rozpuszczaniu agregatu białkowego. (A) Hsp70/Hsp40 łączy się z Hsp104 i prezentuje mu nieuporządkowany fragment agregatu. ATP wiąże się z NBD. (B) Polipeptyd jest ekstrahowany z agregatu i przeciągany przez centralny kanał heksameru Hsp104 z wykorzystaniem energii z hydrolizy ATP, ulegając przy tym rozwinięciu. (C) Rozwinięty substrat jest uwalniany z kanału. (D) Uwolniony polipeptyd przyjmuje prawidłową strukturę przestrzenną (adaptacja własna wg [14])

niem wielkich agregatów (włókien) Sup35. W tej postaci Sup35 nie może być skutecznie przekazywane do komórek potomnych. W warunkach fizjologicznych Hsp104 rozbija włókna Sup35 na mniejsze, oligomeryczne struktury, wykorzystując energię z hydrolizy ATP. Zostają przy tym wyeksponowane „zakażne końcówki” fibryli, rekrutujące rozpuszczalne Sup35 do agregatu. Zgodnie z modelem polimeryzacji, włączenie Sup35 w strukturę włókna wymusza zmianę struktury przestrzennej tego białka na prionową. Z kolei nadmiar Hsp104 może spowodować zbyt intensywną fragmentację agregatów i usunięcie „zakażnych końcówek” [84].

U *Metazoa* Hsp104 nie występuje, chociaż badania laboratoryjne prowadzone na modelu zwierzęcym wykazały skuteczność Hsp104 (obcego pochodzenia) w rozpuszczaniu włókien amyloidowych występujących u ssaków. Badano wpływ Hsp104 na agregaty obecne w komórkach nerwowych osobników dotkniętych chorobą Parkinsona, zbudowane z niewielkiego, presynaptycznego białka –  $\alpha$ -synukleiny [45], która wykazuje tendencję do agregacji w perikarionach neuronów [9,38,51,77]. Wewnątrzkomórkowe wtręty  $\alpha$ -synukleiny, zwane ciałkami Lewy’ego, są trudno rozpuszczalne i bardzo stabilne [10,69,77]. Dużą trwałość zawdzięczają tzw. konformacji poprzecznej  $\beta$  (cross- $\beta$ ) [54,55,80].

Hsp70 i Hsp40 mają ograniczoną zdolność do rozpuszczania dobrze uformowanych agregatów białkowych. Komórki ssaków nie mają białek homologicznych do Hsp104, a pytanie, czy wykształciły mechanizmy przywracania zagregowanym białkom natywnej struktury i właściwej funkcji, pozostaje otwarte [45,53].

Przeprowadzono eksperyment na szczurach transformowanych wektorem lentiwirusowym, niosącym gen kodujący Hsp104. W próbach *in vitro* z wykorzystaniem oczyszczonych białek, Hsp104 zapobiegało tworzeniu się agregatów amyloidowych nawet wówczas, gdy  $\alpha$ -synukleina 400-krotnie przewyższała poziomem powyższe białko opiekuńcze. Badania *in vivo* wykazały, że synteza Hsp104 powoduje znaczącą redukcję zmian neurodegeneracyjnych. Hsp104 reorganizuje toksyczne oligomery preamyloidowe, wykazuje ponadto aktywność dekompozycyjną względem dojrzałych włókien amyloidowych. W eksperymencie sprawdzono również czy Hsp70 i Hsp40 mogą wspomagać Hsp104 w dekompozycji włókien  $\alpha$ -synukleiny. Hsp70 we współdziałaniu z Hsp40, ale bez udziału Hsp104, jest niezdolne do jej przeprowadzenia. Natomiast, w wyniku współdziałania Hsp70 i Hsp40 z Hsp104, poziom dekompozycji włókien  $\alpha$ -synukleiny jest wyższy, niż za sprawą aktywności samego Hsp104 [45].

### WSPÓŁDZIAŁANIE HSP90 I HSP70/HSP40

Działanie Hsp90 w komórce powoduje złagodzenie skutków mutacji genetycznych. Hsp90 kontroluje zwijanie polipeptydów o sekwencji aminokwasowej zmienionej na skutek mutacji [67].

Hsp90 organizuje strukturę przestrzenną białek we współdziałaniu z Hsp70 i Hsp40. Tworzy z nimi złożone kompleksy odpowiedzialne za nadawanie prawidłowej struktury przestrzennej wielu białkom sygnałowym i receptorom dla hormonów steroidowych. Hsp90 i Hsp70 łączą się z cząsteczką Hop (Hsc/Hsp90-organizing protein) i za jej pośrednictwem wiążą się ze sobą. Hop jest białkiem, zawierającym motyw (powtórzenia) TPR (tetratricopeptide repeats), z których każdy składa się z 34 reszt aminokwasowych. Z nich są utworzone domeny TPR [103]. N-końcowa domena TPR1 Hop wiąże się z motywem EEDV na C-końcu Hsp70. Centralna domena TPR2 natomiast łączy się z miejscem akceptorowym na C-końcowej domenie Hsp90. W ten sposób powstaje kompleks Hsp90-Hop-Hsp70/Hsp40. Hsp40 pełni kluczową funkcję w tworzeniu kompleksu, przygotowując Hsp70 do związania z Hop. Hsp40 przyspiesza hydrolizę ATP związanego z domeną NBD białka Hsp70, które w następstwie ulega konformacyjnym zmianom. Struktura przestrzenna Hsp70-ADP sprzyja jego łączeniu z Hop [28].

Model opisujący współdziałanie Hsp70 i Hsp90 w reorganizacji struktury przestrzennej źle zwiniętego polipeptydu zakłada, że substrat jest w pierwszej kolejności rozpoznawany i wiązany przez system Hsp70/Hsp40. Powstały kompleks łączy się z Hsp90 za pośrednictwem Hop. NBD obu cząsteczek Hsp90 wiąże ATP. Krótki fragment NBD – tzw. „pokrywka”, przemieszcza się i zamyka kieszeń wiążącą ATP, inicjując konformacyjne zmiany, umożliwiające zamknięcie „molekularnych kleszczy” w dalszym etapie cyklu. Białka zawierające domeny TPR, takie jak PPIazy: białka wiążące FK506 (FK506 binding protein, FKBP) 4 lub 5, wiążą się z kolejnym miejscem akceptorowym Hsp90. Hydroliza ATP w NBD pociąga za sobą zmianę struktury przestrzennej Hsp90. NTD przemieszczają się ruchem obrotowym naprzeciw MD sąsiedniej cząsteczki Hsp90: struktura dimeru skręca się i zamyka, a stabilność kompleksu – obniża. Hop, wraz z systemem Hsp70/Hsp40, odłącza się od Hsp90. Z dimerem wiążą się dwie cząsteczki p23, które stabilizują kompleks Hsp90 z substratem. W tej konfiguracji polipeptyd przyjmuje prawidłową strukturę przestrzenną. W wyniku zmian konformacyjnych zapoczątkowanych hydrolizą ATP, NTD cząsteczek Hsp90 oddalają się od siebie. Struktura przestrzenna się otwiera, a ADP i właściwie zwinięte białko zostają uwolnione z NTD [44].

### WSPÓŁDZIAŁANIE HSP60 I HSP10

Hsp60 jest białkiem opiekuńczym o wysokim stopniu homologii do bakteryjnego białka GroEL, a Hsp10 – do GroES. GroEL jest oligomerem, zbudowanym z dwóch heptamerycznych pierścieni, które łącząc się ze sobą, tworzą kompleks przypominający kształtem baryłkę, z dwoma centralnymi wgłębieniami na biegunach. Każda z czternastu podjednostek GroEL ma masę ok. 60 kDa. GroES również jest oligomerem. Siedem 10 kDa podjednostek układa się w heptameryczny pierścień [31,66,68,94,100]. Polipeptyd umiejscawia się we wgłęb-

bieniu GroEL i przywiera do wewnętrznej powierzchni pierścienia cis kompleksu w jego rejonach hydrofobowych. Kontynuacja procesu, prowadzącego do zwinięcia substratu, wymaga obecności ATP, które wiąże się z pierścieniem cis oligomeru GroEL, co pociąga za sobą zmiany jego struktury przestrzennej, przygotowujące kompleks do związania kofaktora. GroES wiąże się z domeną wierzchołkową GroEL, zamykając polipeptyd we wgłębieniu i wywołując kolejne zmiany konformacyjne. 60 kDa monomery się skręcają, a wgłębienie wydłuża. Miejsca hydrofilowe odsłaniają się i eksponują na jego wewnętrznej powierzchni. Polipeptyd odrywa się od ścian wgłębienia, ale pozostaje zamknięty we wnętrzu kompleksu, gdzie panuje środowisko sprzyjające jego poprawnemu zwijaniu. Następnie kofaktor GroES i prawidłowo uformowany substrat muszą zostać uwolnione z GroEL. Sprzyja temu hydroliza jednej cząsteczki ATP w pierścieniu cis i – w dalszej kolejności – związanie drugiej z pierścieniem trans oligomeru. Cykl zwijania peptydów jest zatem ściśle związany z ATP [24,30,59].

Mitochondrialne Hsp60, podobnie jak jego homolog – GroES, tworzy kompleks złożony z czternastu podjednostek, układających się w dwa pierścienie, każdy zawierający po siedem monomerów. Kompletna struktura ma kształt baryłki z dwoma dużymi wgłębieniami (ryc. 3). Hsp10 łączy się z domeną wierzchołkową Hsp60 za pośrednictwem ruchomej pętli. Dopiero w kompleksie Hsp60/Hsp10/nukleotyd, pętla zostaje unieruchomiona. Jej strukturalna elastyczność reguluje powinowactwo Hsp10 do Hsp60 w cyklu związanym ze zwijaniem polipeptydów [41,59,66].

Mechanizm zwijania polipeptydów zachodzący z udziałem kompleksu Hsp60/Hsp10, jest w ogólnym

zarysie zbliżony do tego, który przebiega w komórkach bakteryjnych przy współdziałaniu GroEL z GroES. Istotna różnica dotyczy zdarzeń poprzedzających uwalnianie zwiniętego substratu i kofaktora z tetradkameru. W przypadku kompleksu Hsp60/Hsp10 zachodzi ono spontanicznie po hydrolizie ATP w pierścieniu cis, nie jest natomiast poprzedzone związaniem ATP z pierścieniem trans. Dwupierścieniowość nie jest kluczowa dla funkcjonalności systemu Hsp60/Hsp10: wykazano, że Hsp60 może pełnić swoją funkcję – we współdziałaniu z Hsp10 – jako struktura jednopierścieniowa. Natomiast GroEL/GroES musi zawierać dwa pierścienie, by jego elementy odgrywały rolę białek opiekuńczych [56,59].

## PODSUMOWANIE

Białka szoku cieplnego, należące do różnych rodzin, współdziałają ze sobą jako białka opiekuńcze i kofaktory w procesach zwijania nowo zsyntetyzowanych łańcuchów polipeptydowych lub rozpuszczania agregatów zdenaturowanych białek. Współdziałanie Hsp jest istotne w takich procesach, jak translacja, translokacja i degradacja białek w komórce. Kompleksy różnych białek opiekuńczych odpowiadają za poprawne zwijanie polipeptydów o niewłaściwej sekwencji aminokwasowej (będącej skutkiem mutacji genetycznych). Współdziałanie Hsp jest również istotne w procesie fałdowania białek wielodomenowych. Wykazano i opisano współdziałanie białek szoku cieplnego między: Hsp70 i Hsp40, Hsp110 i Hsp70, Hsp104 i Hsp70/Hsp40, Hsp90 i Hsp70/Hsp40 oraz Hsp60 i Hsp10. Hsp, ze względu na istotność funkcji, jaką pełnią w komórce, są zachowane na każdym etapie filogenezy istot żywych i odporne na zmiany ewolucyjne.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Ahmad A., Bhattacharya A., McDonald R.A., Cordes M., Ellington B., Bertelsen E.B., Zuiderweg E.R.: Heat shock protein 70 kDa chaperone/DnaJ cochaperone complex employs an unusual dynamic interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 18966-18971
- [2] Barends T.R., Werbeck N.D., Reinsteijn J.: Disaggregates in 4 dimensions. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2010; 20: 46-53
- [3] Bertelsen E.B., Chang L., Gestwicki J.E., Zuiderweg E.R.: Solution conformation of wild-type *E. coli* Hsp70 (DnaK) chaperone complexed with ADP and substrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 8471-8476
- [4] Borges J.C., Seraphim T.V., Mokry D.Z., Almeida F.C., Cyr D.M., Ramos C.H.: Identification of regions involved in substrate binding and dimer stabilization within the central domains of yeast Hsp40 Sis1. *PLoS One*, 2012; 7: 1-15
- [5] Bosl B., Grimminger V., Walter S.: The molecular chaperone Hsp104 – a molecular machine for protein disaggregation. *J. Struct. Biol.*, 2006; 156: 139-148
- [6] Bukau B., Weissman J., Horwich A.: Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*, 2006; 125: 443-451
- [7] Cappello F., Conway de Macario E., Marino Gammazza A., Bonaventura G., Carini F., Czarnecka A.M., Farina F., Zummo G., Macario A.J.: Hsp60 and human aging: Les liaisons dangereuses. *Front. Biosci.*, 2013; 18: 626-637
- [8] Chen G., Bradford W.D., Seidel C.W., Li R.: Hsp90 stress potentiates rapid cellular adaptation through induction of aneuploidy. *Nature*, 2012; 482: 246-250
- [9] Chen L., Feany M.B.: Alpha-synuclein phosphorylation control neurotoxicity and inclusion formation in a *Drosophila* model of Parkinson disease. *Nat. Neurosci.*, 2005; 8: 657-663
- [10] Conway K.A., Lee S.J., Rochet J.C., Ding T.T., Williamson R.E., Lansbury P.T.Jr.: Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both  $\alpha$ -synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: Implications for pathogenesis and therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 571-576
- [11] DeSantis M.E., Shorter J.: The elusive middle domain of Hsp104 and ClpB: Location and function. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1823: 29-39
- [12] DeSantis M.E., Sweeny E.A., Snead D., Leung E.H., Go M.S., Gupta K., Wendler P., Shorter J.: Conserved distal loop residues in the Hsp104 and ClpB middle domain contact nucleotide-binding domain 2 and enable Hsp70-dependent protein disaggregation. *J. Biol. Chem.*, 2014; 289: 848-867

- [13] Dobson C.M.: Protein folding and misfolding. *Nature*, 2003; 426: 884-890
- [14] Doyle S.M., Wickner S.: Hsp104 and ClpB: protein disaggregating machines. *Trends Biochem. Sci.*, 2009; 34: 40-48
- [15] Dragovic Z., Broadley S.A., Shomura Y., Bracher A., Hartl F.U.: Molecular chaperones of the Hsp110 family act as nucleotide exchange factors of Hsp70s. *EMBO J.*, 2006; 25: 2519-2528
- [16] Easton D.P., Kaneko Y., Subject J.R.: The Hsp110 and Grp170 stress proteins: newly recognized relatives of the Hsp70s. *Cell Stress Chaperones*, 2000; 5: 276-290
- [17] Erzberger J.P., Berger J.M.: Evolutionary relationships and structural mechanisms of AAA+ proteins. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 2006; 35: 93-114
- [18] Garnier C., Lafitte D., Tsvetkov P.O., Barbier P., Leclerc-Devin J., Millot J.M., Briand C., Makarov A.A., Catelli M.G., Peyrot V.: Binding of ATP to heat shock protein 90: evidence for an ATP-binding site in the C-terminal domain. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 12208-12214
- [19] Glover J.R., Lindquist S.: Hsp104, Hsp70, and Hsp40: a novel chaperone system that rescues previously aggregated proteins. *Cell*, 1998; 94: 73-82
- [20] Grimminger-Marquardt V., Lashuel H.A.: Structure and function of the molecular chaperone Hsp104 from yeast. *Biopolymers*, 2010; 93: 252-276
- [21] Gupta R.S.: Evolution of the chaperonin families (Hsp60, Hsp10 and Tcp-1) of proteins and the origin of eukaryotic cells. *Mol. Microbiol.*, 1995; 15: 1-11
- [22] Han W., Christen P.: Mechanism of the targeting action of DnaJ in the DnaK molecular chaperone system. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 19038-19043
- [23] Hanson P.I., Whiteheart S.W.: AAA+ proteins: have engine, will work. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2005; 6: 519-529
- [24] Hartl F.U., Bracher A., Hayer-Hartl M.: Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, 2011; 475: 324-332
- [25] Hartl F.U., Hayer-Hartl M.: Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2009; 16: 574-581
- [26] Haslbeck M., Franzmann T., Weinfurtner D., Buchner J.: Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2005; 12: 842-846
- [27] Hennessy F., Nicoll W.S., Zimmermann R., Cheetham M.E., Blatch G.L.: Not all J domains are created equal: implications for the specificity of Hsp40-Hsp70 interactions. *Protein Sci.*, 2005; 14: 1697-1709
- [28] Hernandez M.P., Sullivan W.P., Toft D.O.: The assembly and intermolecular properties of the hsp70-Hop-hsp90 molecular chaperone complex. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 38294-38304
- [29] Hong S.W., Vierling E.: Mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in the acquisition of tolerance to high temperature stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 4392-4397
- [30] Horwich A.L., Farr G.W., Fenton W.A.: GroEL-GroES-mediated protein folding. *Chem. Rev.*, 2006; 106: 1917-1930
- [31] Itoh H., Komatsuda A., Ohtani H., Wakui H., Imai H., Sawada K., Otaka M., Ogura M., Suzuki A., Hamada F.: Mammalian HSP60 is quickly sorted into the mitochondria under conditions of dehydration. *Eur. J. Biochem.*, 2002; 269: 5931-5938
- [32] Jia H., Halilou A.I., Hu L., Cai W., Liu J., Huang B.: Heat shock protein 10 (Hsp10) in immune-related diseases: one coin, two sides. *Int. J. Biochem. Mol. Biol.*, 2011; 2: 47-57
- [33] Jiang J., Maes E.G., Taylor A.B., Wang L., Hinck A.P., Lafer E.M., Sousa R.: Structural basis of J cochaperone binding and regulation of Hsp70. *Mol. Cell.*, 2007; 28: 422-433
- [34] Jo S., Kalló I., Bardóczi Z., Arrojo e Drigo R., Zeöld A., Liposits Z., Oliva A., Lemmon V.P., Bixby J.L., Gereben B., Bianco A.C.: Neuronal hypoxia induces Hsp40-mediated nuclear import of type 3 deiodinase as an adaptive mechanism to reduce cellular metabolism. *J. Neurosci.*, 2012; 32: 8491-8500
- [35] Kabani M., Beckerich J., Brodsky J.L.: The yeast Sls1p and Fes1p proteins define a new family of Hsp70 nucleotide exchange factors. *Curr. Genom.*, 2003; 4: 263-273
- [36] Kampinga H.H., Craig E.A.: The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010; 11: 579-592
- [37] Kaneko Y., Nishiyama H., Nonoguchi K., Higashitsuji H., Kishishita M., Fujita J.: A novel hsp110-related gene, apg-1, that is abundantly expressed in the testis responds to a low temperature heat shock rather than the traditional elevated temperatures. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 2640-2645
- [38] Kaye R., Head E., Thompson J.L., McIntire T.M., Milton S.C., Cotman C.W., Glabe C.G.: Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science*, 2003; 300: 486-489
- [39] Kityk R., Kopp J., Sinning I., Mayer M.P.: Structure and dynamics of the ATP bound open conformation of Hsp70 chaperones. *Mol. Cell*, 2012; 48: 863-874
- [40] Kregel K.C.: Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J. Appl. Physiol.*, 2002; 92: 2177-2186
- [41] Landry S.J., Taher A., Georgopoulos C., Van der Vies S.M.: Interplay of structure and disorder in cochaperonin mobile loops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 11622-11627
- [42] Lee J., Kim J.H., Biter A.B., Sielaff B., Lee S., Tsai F.T.: Heat shock protein (Hsp)70 is an activator of the Hsp104 motor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013; 110: 8513-8518
- [43] Levy-Rimler G., Bell R.E., Ben-Tal N., Azem A.: Type I chaperonins: not all are created equal. *FEBS Lett.*, 2002; 529: 1-5
- [44] Li J., Buchner J.: Structure, function and regulation of the hsp90 machinery. *Biomed. J.*, 2013; 36: 106-117
- [45] Lo Bianco C., Shorter J., Régulier E., Lashuel H., Iwatsubo T., Lindquist S., Aebischer P.: Hsp104 antagonizes  $\alpha$ -synuclein aggregation and reduces dopaminergic degeneration in a rat model of Parkinson disease. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 3087-3097
- [46] Makhnevych T., Houry W.A.: The control of spindle length by Hsp70 and Hsp110 molecular chaperones. *FEBS Lett.*, 2013; 587: 1067-1072
- [47] Malinowska L., Kroschwald S., Munder M.C., Richter D., Alberti S.: Molecular chaperones and stress-inducible protein-sorting factors coordinate the spatiotemporal distribution of protein aggregates. *Mol. Biol. Cell*, 2012; 23: 3041-3056
- [48] Mayer M.P., Bukau B.: Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2005; 62: 670-684
- [49] McLaughlin K., Carr V.B., Iqbal M., Seago J., Lefevre E.A., Robinson L., Prentice H., Charleston B.: Hsp110-mediated enhancement of CD4<sup>+</sup> T cell responses to the envelope glycoprotein of members of the family *Flaviviridae* in vitro does not occur in vivo. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011; 18: 311-317
- [50] Misselwitz B., Staack O., Rapoport T.A.: J proteins catalytically activate Hsp70 molecules to trap a wide range of peptide sequences. *Mol. Cell*, 1998; 2: 593-603
- [51] Moore D.J., West A.B., Dawson V.L., Dawson T.M.: Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2005; 28: 57-87
- [52] Moro F., Fernandez V., Muga A.: Interdomain interaction through helices A and B of DnaK peptide binding domain. *FEBS Lett.*, 2003; 533: 119-123
- [53] Mosser D.D., Ho S., Glover, J.R.: *Saccharomyces cerevisiae* Hsp104 enhances the chaperone capacity of human cells and inhibits heat

stress-induced proapoptotic signaling. *Biochemistry*, 2004; 43: 8107-8115

[54] Nelson R., Eisenberg D.: Structural models of amyloid-like fibrils. *Adv. Protein Chem.*, 2006; 73: 235-282

[55] Nelson R., Sawaya M.R., Balbirnie M., Madsen A.Ø., Riekel C., Grothe R., Eisenberg D.: Structure of the cross- $\beta$  spine of amyloid-like fibrils. *Nature*, 2005; 435: 773-778

[56] Nielsen K.L., Cowan N.J.: A single ring is sufficient for productive chaperonin mediated folding in vivo. *Mol. Cell*, 1998; 2: 93-99

[57] Ogura T., Whiteheart S.W., Wilkinson A.J.: Conserved arginine residues implicated in ATP hydrolysis, nucleotide-sensing, and inter-subunit interactions in AAA and AAA+ ATPases. *J. Struct. Biol.*, 2004; 146: 106-112

[58] Okui M., Ito F., Ogita K., Kuramoto N., Kudoh J., Shimizu N., Ide T.: Expression of APG-2 protein, a member of the heat shock protein 110 family, in developing rat brain. *Neurochem. Int.*, 2000; 36: 35-43

[59] Parnas A., Nisemblat S., Weiss C., Levy-Rimler G., Pri-Or A., Zor T., Lund P.A., Bross P., Azem A.: Identification of elements that dictate the specificity of mitochondrial Hsp60 for its co-chaperonin. *PLoS One*, 2012; 7: 1-14

[60] Parsell D.A., Kowal A.S., Singer M.A., Lindquist S.: Protein disaggregation mediated by heat-shock protein Hsp104. *Nature*, 1994; 372: 475-478

[61] Pearl L.H., Prodromou C.: Structure and in vivo function of Hsp90. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2000; 10: 46-51

[62] Polier S., Hartl F.U., Bracher A.: Interaction of the Hsp110 molecular chaperones from *S. cerevisiae* with substrate protein. *J. Mol. Biol.*, 2010; 401: 696-707

[63] Prodromou C., Panaretou B., Chohan S., Siligardi G., O'Brien R., Ladbury J.E., Roe S.M., Piper P.W., Pearl L.H.: The ATPase cycle of Hsp90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains. *EMBO J.*, 2000; 19: 4383-4392

[64] Qiu X.B., Shao Y.M., Miao S., Wang L.: The diversity of the DNA J/Hsp40 family, the crucial partners for Hsp70 chaperones. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2006; 63: 2560-2570

[65] Queitsch C., Hong S.W., Vierling E., Lindquist S.: Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2000; 12: 479-492

[66] Ranford J.C., Coates A.R., Henderson B.: The chaperonins are cell-signalling proteins: the unfolding biology of molecular chaperonins. *Expert Rev. Mol. Med.*, 2000; 2: 1-17

[67] Rutherford S.L.: Between genotype and phenotype: protein chaperones and evolvability. *Nat. Rev. Genet.*, 2003; 4: 263-274

[68] Saibil H.R., Ranson N.A.: The chaperonin folding machine. *Trends Biochem. Sci.*, 2002; 27: 627-632

[69] Sawaya M.R., Sambashivan S., Nelson R., Ivanova M.I., Sievers S.A., Apostol M.I., Thompson M.J., Balbirnie M., Wiltzius J.J., McFarlane H.T., Madsen A.Ø., Riekel C., Eisenberg D.: Atomic structures of amyloid cross-beta spines reveal varied steric zippers. *Nature*, 2007; 447: 453-457

[70] Scheibel T., Siegmund H.I., Jaenicke R., Ganz P., Lilie H., Buchner J.: The charged region of Hsp90 modulates the function of the N-terminal domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 1297-1302

[71] Scheibel T., Weikl T., Buchner J.: Two chaperone sites in Hsp90 differing in substrate specificity and ATP dependence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 1495-1499

[72] Schlecht R., Erbe A.H., Bukau B., Mayer M.P.: Mechanics of Hsp70 chaperones enables differential interaction with client proteins. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2011; 18: 345-351

[73] Schumacher R.J., Hansen W.J., Freeman B.C., Alnemri E., Litwack G., Toft D.O.: Cooperative action of Hsp70, Hsp90, and DnaJ proteins in protein renaturation. *Biochemistry*, 1996; 35: 14889-14898

[74] Sekhar A., Lam H.N., Cavagnero S.: Protein folding rates and thermodynamic stability are key determinants for interaction with the Hsp70 chaperone system. *Protein Sci.*, 2012; 21: 1489-1502

[75] Shaner L., Morano K.A.: All in the family: atypical Hsp70 chaperones are conserved modulators of Hsp70 activity. *Cell Stress Chaperones*, 2007; 12: 1-8

[76] Sharma D., Stanley R.F., Masison D.C.: Curing of yeast [URE3] prion by the Hsp40 cochaperone Ydj1p is mediated by Hsp70. *Genetics*, 2009; 181: 129-137

[77] Sharon R., Bar-Joseph I., Frosch M.P., Walsh D.M., Hamilton J.A., Selkoe D.J.: The formation of highly soluble oligomers of alpha-synuclein is regulated by fatty acids and enhanced in Parkinson's disease. *Neuron*, 2003; 37: 583-595

[78] Shomura Y., Dragovic Z., Chang H.C., Tzvetkov N., Young J.C., Brodsky J.L., Guerriero V., Hartl F.U., Bracher A.: Regulation of Hsp70 function by HspBP1: Structural analysis reveals an alternate mechanism for Hsp70 nucleotide exchange. *Mol. Cell*, 2005; 17: 367-379

[79] Shorter J.: Hsp104: a weapon to combat diverse neurodegenerative disorders. *Neurosignals*, 2008; 16: 63-74

[80] Shorter J.: The mammalian disaggregase machinery: Hsp110 synergizes with Hsp70 and Hsp40 to catalyze protein disaggregation and reactivation in a cell-free system. *PLoS One*, 2011; 6: 1-12

[81] Shorter J., Lindquist S.: Prions as adaptive conduits of memory and inheritance. *Nat. Rev. Genet.*, 2005; 6: 435-450

[82] Silflow C.D., Sun X., Haas N.A., Foley J.W., Lefebvre P.A.: The Hsp70 and Hsp40 chaperones influence microtubule stability in *Chlamydomonas*. *Genetics*, 2011; 189: 1249-1260

[83] Sousa R., Jiang J., Lafer E.M., Hinck A.P., Wang L., Taylor A.B., Maes E.G.: Evaluation of competing J domain Hsp70 complex models in light of existing mutational and NMR data. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: E734

[84] Tessarz P., Mogk A., Bukau B.: Substrate threading through the central pore of the Hsp104 chaperone as a common mechanism for protein disaggregation and prion propagation. *Mol. Microbiol.*, 2008; 68: 87-97

[85] Thompson A.D., Bernard S.M., Skiniotis G., and Gestwicki J.E.: Visualization and functional analysis of the oligomeric states of *Escherichia coli* heat shock protein 70 (Hsp70/DnaK). *Cell Stress Chaperones*, 2012; 17: 313-327

[86] Tkach J.M., Glover J.R.: Amino acid substitutions in the C-terminal AAA' module of Hsp104 prevent substrate recognition by disrupting oligomerization and cause high temperature inactivation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 35692-35701

[87] Turturici G., Sconzo G., Geraci F.: Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases. *Biochem. Res. Int.*, 2011; 2011: 1-18

[88] Wall D., Żylicz M., Georgopoulos C.: The NH2-terminal 108 amino acids of the *Escherichia coli* DnaJ protein stimulate the ATPase activity of DnaK and are sufficient for lambda replication. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 5446-5451

[89] Walsh P., Bursac D., Law Y.C., Cyr D., Lithgow T.: The J-protein family: modulating protein assembly, disassembly and translocation. *EMBO Rep.*, 2004; 5: 567-571

[90] Waters E.R., Aebermann B.D., Sanders-Reed Z.: Comparative analysis of the small heat shock proteins in three angiosperm genomes identifies new subfamilies and reveals diverse evolutionary patterns. *Cell Stress Chaperones*, 2008; 13: 127-142

[91] Wendler P., Shorter J., Plisson C., Cashikar A.G., Lindquist S., Saibil H.R.: Atypical AAA+ subunit packing creates an expanded cavity for disaggregation by the protein-remodeling factor Hsp104. *Cell*, 2007; 131: 1366-1377

- [92] Wittung-Stafshede P., Guidry J., Horne B.E., Landry S.J.: The J-domain of Hsp40 couples ATP hydrolysis to substrate capture in Hsp70. *Biochemistry*, 2003; 42: 4937-4944
- [93] Wu X., Zhang Y., Yin Y., Yuan Z., Yu H., Wu Z., Wu G.: Roles of heat-shock protein 70 in protecting against intestinal mucosal damage. *Front. Biosci.*, 2013; 18: 356-365
- [94] Xu Z., Rye H.S., Burston S.G., Fenton W.A., Beechem J.M., Sigler P.B., Horwich A.L.: Distinct actions of cis and trans ATP within the double ring of the chaperonin GroEL. *Nature*, 1997; 388: 792-798
- [95] Xue J.H., Fukuyama H., Nonoguchi K., Kaneko Y., Kido T., Fukumoto M., Fujibayashi Y., Itoh K., Fujita J.: Induction of Apg-1, a member of the heat shock protein 110 family, following transient forebrain ischemia in the rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 247: 796-801
- [96] Yam A.Y., Albanese V., Lin H.T., Frydman J.: HSP110 cooperates with different cytosolic HSP70 systems in a pathway for de novo folding. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 41252-41261
- [97] Yamagishi N., Ishihara K., Hatayama T.: Hsp105 $\alpha$  suppresses Hsc70 chaperone activity by inhibiting Hsc70 ATPase activity. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 41727-41733
- [98] Yamagishi N., Ishihara K., Saito Y., Hatayama T.: Hsp105 but not Hsp70 family proteins suppress the aggregation of heat-denatured protein in the presence of ADP. *FEBS Lett.*, 2003; 555: 390-396
- [99] Yan J., Garza A.G., Bradley M.D., Welch R.D.: A Clp/Hsp100 chaperone functions in *Myxococcus xanthus* sporulation and self-organization. *J. Bacteriol.*, 2012; 194: 1689-1696
- [100] Yan X., Hu S., Guan Y.X., Yao S.J.: Coexpression of chaperonin GroEL/GroES markedly enhanced soluble and functional expression of recombinant human interferon-gamma in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012; 93: 1065-1074
- [101] Yoneyama M., Iwamoto N., Nagashima R., Sugiyama C., Kawada K., Kuramoto N., Shuto M., Ogita K.: Altered expression of heat shock protein 110 family members in mouse hippocampal neurons following trimethyltin treatment in vivo and in vitro. *Neuropharmacology*, 2008; 55: 693-703
- [102] Young J.C., Obermann W.M., Hartl F.U.: Specific binding of tetratricopeptide repeat proteins to the C-terminal 12-kDa domain of Hsp90. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 18007-18010
- [103] Zhao R., Davey M., Hsu Y.C., Kaplanek P., Tong A., Parsons A.B., Krogan N., Cagney G., Mai D., Greenblatt J., Boone C., Emili A., Houry W.A.: Navigating the chaperone network: An integrative map of physical and genetic interactions mediated by the Hsp90 chaperone. *Cell*, 2005; 120: 715-727
- [104] Żylicz M., King F.W., Wawrzynow A.: Hsp70 interactions with the p53 tumour suppressor protein. *EMBO J.*, 2001; 20: 4634-4638
- [105] Żylicz M., Wawrzynow A.: Insights into the function of Hsp70 chaperones. *IUBMB Life*, 2001; 51: 283-287

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.