

БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 КДА: РАЗНООБРАЗИЕ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

© Л. Е. Козеко

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев;
электронный адрес: kozeko@optima.com.ua

В обзоре представлены данные о разнообразии, структуре, генной экспрессии и функциях высококонсервативного семейства белков теплового шока 90 кДа (Hsp90). Являясь специализированными молекулярными шаперонами, они участвуют в фолдинге, поддержании структурной целостности и конформационной регуляции определенного набора белков, участвующих в таких важных клеточных процессах, как передача сигналов, контроль клеточного цикла и др. Рассматриваются состав и функционирование шаперонного комплекса Hsp90. Осуществляя конформационную регуляцию многих регуляторных белков и защищая клетку при стрессе, Hsp90 играют значительную роль в росте и развитии организма. В обзоре суммируются данные, полученные при исследовании различных организмов, главным образом животных и дрожжей, вместе с тем особый акцент делается на том, что уже известно для Hsp90 у растений.

Ключевые слова: белок теплового шока Hsp90, защита клеток, конформационная регуляция, структура, шаперон.

Принятые сокращения: а. о. — аминокислотный остаток, мякРНП — малые ядрышковые рибонуклеопротеиды, ЭР — эндоплазматический ретикулум, ЭТШ — элементы теплового шока.

Белок теплового шока 90кДа (heat-shock protein 90, Hsp90) был первоначально открыт в числе белков, активно синтезируемых при тепловом стрессе. Дальнейшие исследования показали, что Hsp90 представляет собой семейство белков, сходных по структуре и функциям. Это высококонсервативное семейство, представители которого найдены в клетках прокариот и эукариот. В отличие от других белков теплового шока содержание Hsp90 в клетке при нормальных условиях достаточно велико — до 1 % от суммы всего цитозольного белка (Lai et al., 1984) и только в некоторой степени увеличивается при стрессе (Picard, 2002). Показано, что функционирование Hsp90 необходимо для жизнеспособности эукариотических клеток. Являясь частью клеточной системы молекулярных шаперонов, он участвует в фолдинге новосинтезированных белков и рефолдинге белков, потерявших нативную конформацию. Из-за сложности структуры и функций Hsp90 его активное изучение началось позднее по сравнению с другими шаперонами. Однако успехи последнего десятилетия в исследовании этого семейства позволили определить особенности его функционирования и охарактеризовать его роль в основных метаболических процессах клетки («housekeeping functions»). Hsp90 получил название клеточной «свахи» (cellular «matchmakers»), благодаря тому что его белками-клиентами является довольно разнообразный набор регуляторных белков. Целью данного обзора изначально являлось описание Hsp90 растений. Однако мы не можем не суммировать знания, полученные для различных видов организмов, учитывая высокую консервативность белков этого семейства, сходство их функций в клетках разных тканей и организмов и то,

что основной прогресс в изучении механизмов его действия связан с работами на животных и дрожжевых клетках.

Разнообразие Hsp90

Hsp90 выявлены у бактерий, животных, растений и грибов, но, по-видимому, отсутствуют у археобактерий. Из-за некоторых вариаций относительной молекулярной массы по данным различных исследований (между 80 и 90 кДа) гомологам Hsp90 в литературе присвоены различные имена (Hsp80, Hsp81, Hsp82, Hsp83, Hsp84, Hsp85, Hsp86, Hsp88, Hsp89, Hsp90, Grp94, HptG — бактериальный гомолог и т. д.). Сравнение полных сиквенсов Hsp90 показало высокую консервативность этого семейства. Так, у *Escherichia coli* и различных эукариот идентичны 40 % аминокислотных последовательностей представителей этого семейства (Gupta, 1995). Филогенетический анализ Hsp90 различных групп эукариот выявил наиболее близкое родство гомологов растений и животных.

В многоклеточных организмах представители семейства Hsp90 найдены в цитозоле, эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), митохондриях, у растений, кроме того — в хлоропластах. Степень гомологии Hsp90 одного клеточного компартмента у разных видов организмов, как правило, существенно выше, чем у белков с различной внутриклеточной локализацией у одного вида. Так, гомология цитозольных Hsp90 разных видов эукариот составляет не менее 61 %, в частности для растений и животных — 67—70 % (Gupta, 1995). Степень идентичности цитозоль-

ных Hsp90 разных видов растений лежит в интервале 85—93 %; пластидные гомологи ржи и *Arabidopsis thaliana* идентичны между собой на 76 %, митохондриальные — на 64 % (Krishna, Gloor, 2001). Ниже уровень гомологии у Hsp90 ЭР разных видов организмов (~50 %) (Gupta, 1995). С другой стороны, сравнение сиквенсов Hsp90 различной внутриклеточной локализации у человека показало, что цитозольные Hsp90 на 49 % гомологичны с белком ЭР Grp94 и на 35 % — с митохондриальным TRAP1. У *A. thaliana* цитозольные Hsp90 гомологичны с белком ЭР на 51—53 %, с белком хлоропластов на 47—49 % и с белком митохондрий на 45—48 %, в то же время два последних белка обнаруживают больше сходства друг с другом (68 %), и их аминокислотные последовательности отличаются от цитозольных наличием дополнительных участков на N- и C-концах (Krishna, Gloor, 2001). Анализ генов Hsp90 *A. thaliana* выявил разницу и в количестве интронов: если гены цитозольных белков содержат по 2—3 интрона, то в генах пластидного и митохондриального белков количество интронов равняется 18—19 (Milioni, Natzopoulos, 1997). Гены Hsp90 имеют ядерную локализацию.

Цитозольные Hsp90 представлены несколькими изоформами. Так, геномы дрожжей и животных содержат по два гена, кодирующих очень сходные изоформы — 97.4 % идентичности у дрожжей, 86.3 % — у человека (Gupta, 1995; Picard, 2002). Анализ генома *A. thaliana* выявил гены четырех цитозольных Hsp90, все они находятся в хромосоме V (Krishna, Gloor, 2001). Три из них кластеризованы в зоне размером 15kb и идентичны между собой на 96 и 97 %. Степень их гомологии с четвертым геном составляет 85—88 %. Можно ожидать, что наличие более чем двух цитозольных изоформ присуще этому семейству шаперонов у растений.

Показано, что цитозольные Hsp90 необходимы для жизнеспособности и устойчивости к стрессовым воздействиям эукариот. В то же время Hsp90 митохондрий и ЭР выполняют в эукариотических клетках, скорее всего, специализированные функции, поскольку у *Saccharomyces cerevisiae* и одноклеточных эукариот их гомологи не обнаружены (Lee, 2001; Picard, 2002). В прокариотических клетках Hsp90 не является необходимым компонентом и, как полагают, может играть вспомогательную роль (Bardwell, Craig, 1988).

Клеточные функции Hsp90

Hsp90 занимает определенное место в общей системе белкового фолдинга клетки. Функционирование его как шаперона доказано в экспериментах *in vitro*: он способен самостоятельно предотвращать агрегацию белков, находящихся в незрелой или частично денатурированной конформации (Miyata, Yahara, 1992; Wiech et al., 1992). Но вместе с тем важнейшей отличительной чертой Hsp90 является его избирательность по отношению к белкам-клиентам. Он специфически осуществляет фолдинг и конформационную регуляцию ряда белков различных сигнальных путей клетки (Picard et al., 1990; Smith, 1993; Xu, Lindquist, 1993; Nathan, Lindquist, 1995; Nathan et al., 1997; Pratt, Toft, 1997; Goes, Martin, 2001). Стабилизируя метастабильные домены зрелых белков и образуя с ними более или менее стабильные ассоциаты, Hsp90 предохраняет их от нарушения нативной конформации и последующей агрегации, отвечает за их стабилизацию и ак-

тивацию (Jakob et al., 1995). Если работа шаперона каким-то образом блокируется, белки-субстраты быстро разрушаются с помощью протеасом (Goes, Martin, 2001; Imai et al., 2003). Установлено, что Hsp90 играют важную роль в контроле качества белков, направляя поврежденные белки к 26S-протеасомам для деградации (Pratt et al., 2008).

Показано участие Hsp90 в транспортировке глюкокортикоидного рецептора в ядро с участием цитоскелета (Galigiana et al., 1998), в регуляции активности транскрипционных факторов, например фактора теплового шока (Ali et al., 1998; Duina et al., 1998), поддержании стабильности 40S-рибосомных белков (Kim et al., 2006), сборке белковых комплексов, например протеасом (Imai et al., 2003) и кинетохорного комплекса (Bansal et al., 2004). Несмотря на то что основная часть цитозольных Hsp90 локализована в цитоплазме, некоторое их количество было обнаружено в ядре в локализованном с глюкокортикоидным рецептором виде при взаимодействии последнего с промотерным сайтом ДНК (Stavreva et al., 2004). Получены факты, подтверждающие необходимость Hsp90 для функционирования экзоцитозного и эндоцитозного секреторных путей у *S. cerevisiae* (McClellan et al., 2007). Кроме того, Hsp90 обнаружен во внеклеточном пространстве и на внешней поверхности животных клеток, где он может взаимодействовать с внешними доменами рецепторов и ферментов, участвуя тем самым в начальном этапе передачи внешнего сигнала (Eustace, Jay, 2004; Sidera, Patsavoudi, 2008). У растений показано участие Hsp90 в импорте белков в пероксисомы (Crookes, Olsen, 1998) и в активации рецепторного комплекса CLV мембран ЭР (Ishiguro et al., 2002).

Поскольку Hsp90 участвует в конформационной регуляции многих белков сигналинга, он может играть существенную роль в передаче клеточных сигналов, таким образом, его роль оказывается гораздо шире роли молекулярных шаперонов. Косвенным доказательством этого могут служить множественные физиологические и морфологические дефекты, наблюдаемые при подавлении функционирования шаперона, такие как нарушение клеточного цикла на разных стадиях митогенного сигнального каскада, прохождения G₁- и G₂-фаз, функционирования центросом в ходе митоза, осуществлении цитокинеза (Helmbrecht et al., 2000; Lange et al., 2000; McClellan et al., 2007), а также множественные нарушения морфогенеза, детектированные как у *Drosophila*, так и у *A. thaliana* (Rutherford, Lindquist, 1998; Queitsch et al., 2002).

В стрессовых условиях, приводящих к накоплению в клетке белков с нарушенной конформацией, Hsp90, как полагают, частично переключается на их рефолдинг (Jakob et al., 1995; Nathan et al., 1997; Ali et al., 1998; Zou et al., 1998). Связывая белки с нарушенной структурой, Hsp90 определяет их дальнейшую судьбу: передает другим шаперонам (в частности, Hsp70) для ренатурации либо протеасомам для протеолиза (Freeman, Morimoto, 1996; Minami et al., 2000). Вместе с тем в недавнем комплексном исследовании *S. cerevisiae*, проведенном путем широкого химико-генетического скрининга в комплексе с биоинформационным анализом, получены данные, свидетельствующие о том, что при переходе от нормальных условий роста к стрессовым Hsp90 специфически переключается с одних клеточных процессов на другие (McClellan et al., 2007). Исследователи показали, что при физиологических условиях Hsp90 в основном участвует в работе секреторных путей и клеточного

транспорта, тогда как при повышении температуры — в клеточном цикле, мейозе и цитокинезе.

Таким образом, шаперонные функции Hsp90 весьма разнообразны: 1) он может принимать полипептид в промежуточной или почти нативной конформации от других шаперонов (в частности, от Hsp70) для завершения фолдинга; 2) способствовать приобретению белком активной конформации; 3) поддерживать субстрат в неактивном (или активном) состоянии до появления необходимого сигнала или при транспортировке; 4) участвовать в сборке белковых комплексов; 5) поддерживать денатурированные белки в состоянии готовности к рефолдингу; 6) направлять белки к протеасомам для протеолиза.

Функционирование Hsp90 ингибируется рядом антибиотиков — гелданамицином, действие которого наиболее изучено, а также хербимицином А, макбецином, радициолом, новобиоцином и цисплатином (geldanamycin, herbimicin A, macbecin, radicicol, novobiocin and cisplatin), что приводит к неправильному фолдингу и деградации субстратов (Whitesell et al., 1994; Smith et al., 1995; Soti et al., 2002).

Структура и функциональные домены Hsp90

Все Hsp90 имеют общий структурный план, что позволяет предполагать их конформационное сходство и близкий механизм действия, в то же время представления о структурных доменах и особенностях их взаимодействий все еще остаются неполными. В молекуле Hsp90 выявлены высококонсервативные N-терминальный (~200 а. о., ~25 кДа) и С-терминальный (~100 а. о., ~12 кДа) домены, между которыми расположены короткий заряженный (charged) и срединный домены (~35 кДа) (Buchner, 1999; Pearl, Prodromou, 2000; Krishna, Gloor, 2001; Picard, 2002) (рис. 1). Пространственная структура N-терминального домена представляет собой двухслойный α/β -сандвич; срединный домен состоит из двух $\alpha\beta$ -доменов — большого и малого, присоединенных соответственно к N- и С-концам молекулы, соединенных между собой короткой, плотно уложенной α -спиралью; С-терминальный домен состоит из небольших перемежающихся α/β -участков (Pearl, Prodromou, 2006). Заряженный домен варьирует по длине и составу как среди изоформ Hsp90, так и среди видов организмов. В частности, изоформы цитозоля и ЭР эукариот содержат полноценный заряженный домен, в то время как у бактериального белка HtpG, митохондриальных белков животных (TRAP1) и растений (Hsp90-6 *A. thaliana*), белка хлоропластов (Hsp90-5 *A. tha-*

liana) этот домен либо очень короткий, либо отсутствует. Характерной чертой цитозольных Hsp90 эукариот является также наличие пентапептида MEEVD на конце С-терминального домена.

Следует отметить, что исследования функциональных доменов Hsp90 в основном выполнены на животных и дрожжевых клетках. У растений консервативные домены выявлены путем анализа известных сиквенсов, а их функции воспроизведены экспериментально только частично.

N- и С-терминальные домены: димеризация, связывание АТФ. Исследования Hsp90 мыши и человека показали, что изоформа Hsp90 α существует главным образом в форме гомодимера, тогда как Hsp90 β — в форме мономера (Minami et al., 1991; Nemoto et al., 1995; Garnier et al., 2001). Анализ нативного состояния цитозольных Hsp90 из листьев шпината, проростков рапса и зародышей пшеницы с помощью неденатурирующего электрофореза выявил наличие мономеров, димеров и олигомеров (Krishna et al., 1997). Молекула Hsp90 содержит два участка димеризации — на N- и С-концах. Основной участок межсубъединичного связывания лежит внутри последовательности из ~190 а. о. С-конца (Minami et al., 1994; Nemoto et al., 1995). Субъединицы в димере противоположно направлены, их димеризация происходит путем взаимодействия участка С-терминального домена каждой из субъединиц с участком срединного домена другой (рис. 2): например, у димера Hsp90 β человека Ala629-Asp732 реагирует с Val542-Lys615 противоположной субъединицы; свободный сегмент между ними (616—628 а. о.) служит подвижным шарниром (Nemoto et al., 1995). За счет димеризации образуется молекулярный зажим. Вместе с тем способность к образованию димерной структуры, по-видимому, у разных Hsp90 различна. Так, низкую способность Hsp90 α к димеризации связывают с 16 аминокислотными заменами, выявленными на С-конце молекулы.

Hsp90 принадлежит к АТФ-регулируемым шаперонам, причем АТФазный цикл играет решающую роль в его функционировании (Prodromou et al., 1997; Obermann et al., 1998; Panaretou et al., 1998). Архитектура Hsp90 в АТФ-связанном состоянии характеризуется большим количеством контактов как между доменами внутри молекулы, так и между двумя молекулами димера. Так, связывание и гидролиз АТФ управляют открыванием и закрытием молекулярного зажима (Prodromou et al., 2000; Richter et al., 2001). Сайт связывания АТФ/АДФ содержится в N-терминальном домене. С этим же сайтом, имитируя АДФ, связываются антибиотики гелданамицин, ра-

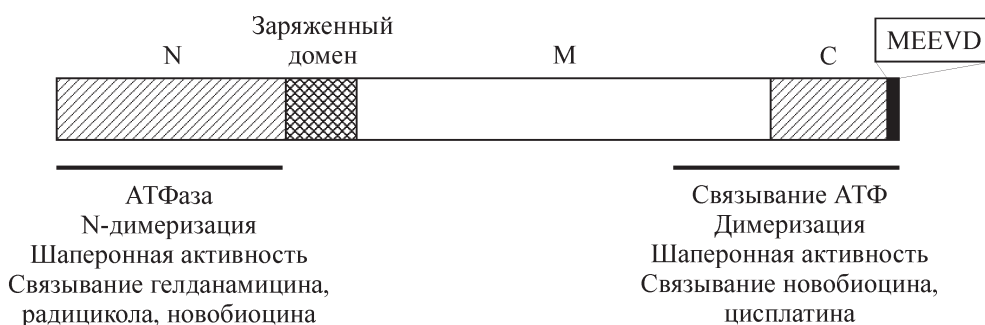


Рис. 1. Доменная организация Hsp90.

N — N-терминальный домен, M — срединный домен, C — С-терминальный домен.

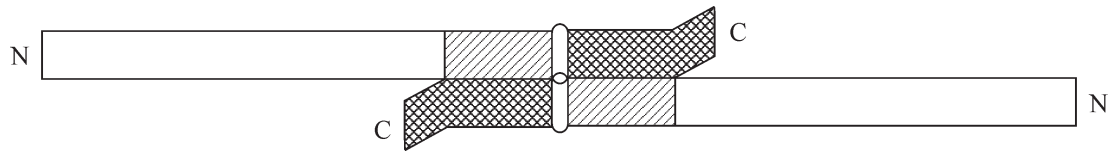


Рис. 2. Гомодимерная структура Hsp90.

Два участка С-терминальной половины (светло- и темно-серый цвета) взаимодействуют друг с другом. Короткий сегмент между ними образует подвижный шарнир.

дицикол и новобиоцин (Prodromou et al., 1997; Obermann et al., 1998). В отличие от других АТФ-зависимых шаперонов и киназ Hsp90 связывает АТФ аденозином вниз к дну, а γ -фосфатом — к поверхности глубокого «кармана», образуемого N-терминальным доменом. Такая структура сайта связывания характерна для суперсемейства гомодимерных АТФаз, к которому также относятся ДНК-гираза, топоизомераза II, белок репарации ДНК MutL и гистидинкиназы CheA и EnvZ (Pearl, Prodromou, 2000). Предполагают, что, так же как и у этих белков, у Hsp90 связывание АТФ индуцирует в димере контакт между АТФ-связывающими сайтами двух субъединиц (Dutta, Inouye, 2000). Это может происходить следующим образом. После взаимодействия шаперона с АТФ короткий сегмент N-домена, так называемая «крышечка» («lid», 94—125 а. о.), накрывает АТФ-связывающий «карман», при этом конформация N-терминального домена изменяется и происходит его связывание с N-доменом другой субъединицы димера (Wandinger et al., 2008). В результате формируется временный N-терминальный димер, что приводит к его скручиванию и компактизации. Вторичная димеризация подтверждается результатами электронно-микроскопических наблюдений, показавших, что димер Hsp90 в отсутствие АТФ имеет вытянутую форму с N-терминальными доменами на обоих концах, тогда как в присутствии АТФ становится кольцеобразным (Maruya et al., 1999). Флуоресцентные пробы, прикрепленные к N-концам Hsp90, взаимодействовали строго друг с другом. Кроме того, молекулы Hsp90 дрожжей, из которых были удалены С-терминальные домены димеризации, образовывали гомодимеры в присутствии негидролиземого аналога АТФ — 5'-аденилилимидодифосфата (Prodromou et al., 2000).

N-терминальная димеризация делает возможным гидролиз АТФ, который в свою очередь приводит к диссоциации N-доменов и открыванию молекулярного зажима. Таким образом, стабилизация напряженного конформационного и функционального состояния Hsp90 зависит от АТФ-связывания и наличия γ -фосфата (Pearl, Prodromou, 2006).

Показано, что изолированный N-терминальный домен обладает слабой АТФазной активностью (Obermann et al., 1998). Высокий уровень активности наблюдается только при наличии С-терминального домена (Weikl et al., 2000) и стимулируется при связывании шаперона с субстратом (McLaughlin et al., 2002). Скорость гидролиза АТФ шапероном невысока: 1 молекула АТФ за 1—2 мин у дрожжей (Panaretou et al., 1998; Scheibel et al., 1998) и за 20 мин у человека (McLaughlin et al., 2002). Низкую скорость гидролиза объясняют его сопряженностью со сложными конформационными изменениями в молекуле Hsp90 в ходе АТФазного цикла.

Позже в молекуле Hsp90 обнаружили второй АТФ-связывающий сайт, локализованный в С-терминальном домене и открывающийся в том случае, когда N-тер-

минальный сайт занят или дезактивирован (Marcu et al., 2000; Soti et al., 2002). Этот сайт нечувствителен к гелданамицину и радициколу, однако блокируется новобиоцином и цисплатином. Взаимодействие этого сайта с ГТФ или новобиоцином ингибирует связывание N-терминальным сайтом нуклеотида или гелданамицина, тогда как взаимодействие с цисплатином не влияет на этот процесс (Soti et al., 2002). Таким образом, два нуклеотидсвязывающих сайта функционально взаимозависимы, а особенности действия антибиотиков используются в качестве инструмента в изучении АТФ-зависимых функций шаперона.

Участки шаперонной активности. Результаты экспериментов указывают на то, что по меньшей мере два домена молекулы Hsp90 обладают шаперонной активностью: как N-, так и С-домен способны предотвращать агрегацию белков и поддерживать определенные субстратные белки в состоянии готовности к фолдингу (Young et al., 1997; Scheibel et al., 1999; Minami et al., 2001).

Заряженный линкерный домен, примыкающий к N-терминальному домену, обогащен остатками глутаминовой кислоты (Krishna, Gloor, 2001). Предполагают, что этот участок молекулы взаимодействует с С-терминальным доменом при отсутствии АТФ, препятствуя связыванию им нуклеотида и давая возможность первоочередного связывания нуклеотида N-терминальному домену (Soti et al., 2002). Заряженный домен придает шаперону высокую аффинность к ненативным белкам (Scheibel et al., 1999), необходим для рефолдинга (Johnson et al., 2000) и содержит сайт(ы) фосфорилирования-автофосфорилирования (Park et al., 1998). Так, этот домен у Hsp90 *A. thaliana* содержит сайт фосфорилирования для казеин-киназы II (Krishna, Gloor, 2001).

Срединный домен. Связывание АТФ N-терминальным доменом приводит к образованию контактов между срединным доменом и N-терминальными доменами — собственной и противоположной молекул димера (Soti et al., 2002; Pearl, Prodromou, 2006). В срединном домене обнаружена подвижная каталитическая петля (370—390 а. о.), которая несет консервативный остаток аргинина Arg³⁸⁰. Этот остаток, как полагают, может взаимодействовать с γ -фосфатом АТФ N-домена, вызывая поляризацию β - γ -связи и тем самым способствуя гидролизу АТФ (Pearl, Prodromou, 2006). Интересно, что кроме сайта, связывающего γ -фосфат нуклеотида N-домена, срединный домен содержит также сайт, связывающий нуклеотид С-домена. Это дало основание для предположения об участии срединного домена в трансдукции нуклеотидсвязанного состояния между N- и С-терминальными доменами (Soti et al., 2002).

Результаты ряда исследований Hsp90 человека свидетельствуют в пользу того, что участок 289—389 а. о. содержит сайт(ы) связывания белка-субстрата (Meyer et al., 2003; Kishimoto et al., 2005). В частности, значимым в этом отношении участком является консервативный гид-

рофобный участок с Trp³⁰⁰ в центре и амфипатическим выступом (Pearl, Prodromou, 2006). Кроме того, анализ высокоиммуногенных сайтов Hsp90 человека выявил рядом с заряженным доменом консервативный пентапептид (295—299 а. о.), который, по-видимому, является иммунодоминантным эпитопом, общим для всех эукариотических Hsp90 (Kishimoto et al., 2005), что дает основание ожидать сходную функциональную нагрузку сайта у гомологичных белков.

Связывание субстратного белка. Установлено, что пространство внутри димера Hsp90, находящегося в виде закрытого молекулярного зажима, составляет около 3—4 нм в диаметре (Maquya et al., 1999). Согласно проведенным оценкам, это пространство слишком мало, для того чтобы вместить целый белок, но оно может заключить в себя подходящий по размерам домен субстратного белка. Также рассматривается возможность того, что димер в связанном с АТФ состоянии имеет поверхностные участки, способные связать субстрат (Young et al., 2001).

Hsp90 образует достаточно стабильные связи с субстратными белками, благодаря чему их комплексы могут быть выделены и подвергнуты биохимическому анализу (Pratt et al., 2008). Сайты связывания субстратного белка обнаружены как в N-, так и в C-терминальных доменах (Young et al., 1997; Scheibel et al., 1998). Кроме того, по всей длине молекулы Hsp90 найдены участки, принимающие то или иное участие в этом процессе (Scheibel et al., 1999; Yamada et al., 2003). Связывание субстрата N-терминальным доменом является АТФ-зависимым и ингибируется антибиотиками, высокое сродство к ненативным белкам ему придает соседний заряженный домен (Young et al., 1997; Scheibel et al., 1999). Предполагают, что сайт связывания C-терминального домена непосредственно взаимодействует с полипептидами в незрелой или нарушенной конформации через свои гидрофобные участки. Причем этот сайт участвует как в связывании субстрата, так и в образовании димера, поскольку замена двух соседних Leu в положениях 665 и 666 или 671 и 672 на два Ser в молекуле Hsp90α приводила к нарушению обоих процессов (Yamada et al., 2003). Характерной особенностью C-терминального домена является также его способность связывать короткие пептиды (Young et al., 1997; Scheibel et al., 1999). Однако структурные особенности, обеспечивающие узнавание субстратов, детально не охарактеризованы, и по-прежнему остается неясным, различаются ли сайты связывания по своей субстратной специфичности.

Сигналы внутриклеточной локализации. Определено местонахождение сигнальных последовательностей внутриклеточной локализации Hsp90. Последовательность, ответственная за локализацию цитозольного белка, обнаружена в C-терминальной половине Hsp90 (Passinen et al., 2001). Сигналы ядерной локализации у цитозольных Hsp90 (nuclear localization signal, NLS) не найдены, считается, что шапероны попадают в ядро в виде комплекса с их субстратными белками, содержащими NLS. Анализ сиквенсов пластидной и митохондриальной изоформ Hsp90 *A. thaliana* показал, что пептиды, ответственные за импорт белков соответственно в хлоропласт (60 а. о.) и в митохондрию (48 а. о.), находятся в N-терминальной зоне белков (Krishna, Gloor, 2001). У изоформы, предположительно локализованной в ЭР, обнаружены сигнальные мотивы ЭР-локализации: участок из 13 а. о. в N-терминальной зоне и короткий C-терминальный пептид KDEL.

Взаимодействие с кошаперонами. Конец C-терминального домена цитозольных Hsp90 эукариот содержит консервативный пентапептид MEEVD, составляющий ядро поверхности взаимодействия с тетрапептидными повторами (tetra-tricopeptide, TPR) кошаперонов (Ramsey et al., 2000; Scheufler et al., 2000). Сайты связывания с другими кошаперонами определены в N-терминальном и срединном доменах.

Посттрансляционные модификации. Функциональная активность Hsp90 регулируется также посттрансляционными модификациями, такими как фосфорилирование, ацетилирование и S-нитрозилирование. Уровень фосфорилирования молекулы Hsp90 высокий при физиологических условиях и снижается при стрессе (Legagneux et al., 1991). Масс-спектрометрический анализ нативных Hsp90α и Hsp90β мозга свиньи выявил наличие от 1 до 4 фосфатов (с преобладанием бифосфата) у α-изоформы, тогда как β-изоформа присутствовала исключительно в виде бифосфата (Garnier et al., 2001). Фосфорилирование, как предполагают, может быть необходимо для правильного фолдинга или высвобождения субстрата либо действовать как репрессор его функций (Picard, 2002).

Другим процессом, влияющим на взаимодействие Hsp90 с АТФ и субстратными белками, является ацетилирование (Wandinger et al., 2008). Шаперон содержит по меньшей мере два сайта ацетилирования. Гиперацетилирование снижает его способность связывать некоторые из субстратных белков, такие как p53, Raf1, Bcl-Abl, глюкокортикоидный рецептор, и осуществлять их фолдинг. За деацетилирование шаперона отвечает фермент HDAC6 (Kovacs et al., 2005).

Нитрозилирование, как показано на Hsp90 человека, осуществляется NO-синтазой: фермент нитрозилирует Cys⁵⁹⁷ C-терминального домена шаперона, что приводит к ингибированию его АТФазной активности (Martínez-Ruiz et al., 2005).

Шаперонный комплекс Hsp90

К настоящему времени только отдельные работы содержат указания на то, что Hsp90 способен осуществлять фолдинг белков индивидуально. Предполагается, что самостоятельно функционируют бактериальные формы Hsp90 и белок ЭР (Young et al., 2001). В работах, выполненных на животных и дрожжевых клетках, показано, что цитозольные Hsp90 функционируют в кооперации с другими шаперонами, кошаперонами и регуляторными факторами (Buchner, 1999; Pearl, Prodromou, 2000; Young et al., 2001; Picard, 2002).

Кошапероны (кофакторы) регулируют АТФазную и шаперонную активность Hsp90, влияют на его взаимодействие с другими (ко)шаперонами, ассистируют в выборе и удерживании субстратных белков, определяют особенности функционирования. Система Hsp90 характеризуется наличием большого количества кошаперонов. В основу их характеристики положены особенности взаимодействия с Hsp90 и субстратом, а также влияния на АТФазный цикл шаперона (табл. 1). Большинство кошаперонов использует для связи с Hsp90 TPR-мотивы, представляющие собой три консервативных повтора по 34 аминокислоты (Young et al., 2001; Picard, 2002). Со стороны Hsp90 в этом взаимодействии участвует C-терминальный пентапептид MEEVD, а другие участки молекулы его модули-

Кошапероны Hsp90

Кошаперон (кофактор)			Участок Hsp90, с которым взаимодействует кошаперон	Функции
гомолог у высших эукариот	в том числе у растений	гомолог у дрожжей		
I. TPR-кошапероны				
Кошапероны, содержащие больше одного TPR-домена				
Hop	Гомологи Hop	p60/Sti1	C-терминальный пента-пептид MEEVD	Адаптор для Hsp90/Hsp70, ингибитор АТФазы Hsp90
Trp2	—	—	То же	Индуктор диссоциации комплекса Hsp90—субстрат
—	—	Tah1	» »	Стабилизация кофактора Pih1 и сборка мультибелкового комплекса, участвующего в образовании и поддержании мякРНП
Кошапероны, содержащие один TPR-домен Пептидил-пролил цис-транс изомеразы (PPIases)				
FKBP51 FKBP52	Гомологи FKBP	—	C-терминальный пента-пептид MEEVD	Участие в фолдинге и транспорте стероидных рецепторов; связывание кальмодулина; шаперонные свойства
Сур40	Гомолог Сур40	Cpr6 Cpr7	То же	Участие в фолдинге стероидных рецепторов; поддержание фактора теплового шока в неактивном состоянии; шаперонные свойства; Cpr6 — активатор АТФазы Hsp90
Фосфатаза Hsp90				
PP5	—	Ppt1	C-терминальный пента-пептид MEEVD	Дефосфорилирование Hsp90, оптимизация фолдинга субстрата
Убиквитин-лигаза				
CHIP	—	—	C-терминальный пента-пептид MEEVD	Направление субстрата к аппарату убиквитинирования
Другие TPR-кошапероны				
Tom34	—	—	C-терминальный пента-пептид MEEVD	Митохондриальный транспорт белка
Tom70	—	—	То же	То же
Unc45	—	She4	» »	Сборка миозиновых филаментов
AP	—	—	» »	Взаимодействие с Ah-рецептором
TTC4/Dpit47	—	Cns1	» »	Связывание Hsp90 с Hsp70 у дрожжей
SUGT	Sgt1	Sgt1	C-терминальный пента-пептид MEEVD и N-терминальный домен	Взаимодействие с комплексом убиквитин-лигазы SCF; взаимодействие с R-белками у растений
II. Кошапероны, не содержащие TPR-домена				
p23	Гомолог p23	Sba1	N-терминальный домен в связанном с АТФ димеризованном состоянии	Стабилизация N-терминального димера на последней стадии АТФазного цикла; шаперонные свойства
Cdc37/p50/pp50/p50 ^{cdc37}	—	Cdc37	N-терминальный домен	Кофактор, специфичный для киназ; ингибитор АТФазы; шаперонные свойства
Aha1	—	Aha1/Hch1	Срединный домен	Активатор АТФазы Hsp90
—	Rar1	—	N-терминальная половина Hsp90	Взаимодействие с R-белками у растений

руют (Young et al., 1998; Carrello et al., 1999; Ramsey et al., 2000). Несколько аминокислотных остатков TPR-домена формируют «карбоксилатный зажим», абсолютно консервативный у всех кошаперонов Hsp90 в отличие от остальных TPR-белков (Scheufler et al., 2000; Young et al., 2001).

TPR-белок, который войдет в контакт с Hsp90, будет определять особенности функционирования шаперона. Например, CHIP (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein, E3/E4-убиквитинлигаза) связывает Hsp90 с аппаратом убиквитинирования, контролирующим деградацию

белков с помощью 26S-протеасом (Connell et al., 2001). Том 34 и Том 70 вовлекают Hsp90 в работу механизма митохондриального импорта (Young et al., 1998). Особую роль в этом ряду, по-видимому, занимают кошапероны Hsp и Trg2, которые содержат по два отдельных TPR-домена, способных одновременно связывать Hsp90 и Hsp70 (Hsp70 также содержит консервативную последовательность EEVD на С-конце) (Chen, Smith, 1998). Однако функционирование этих двух кошаперонов имеет свои особенности. Hsp (Hsp70—Hsp90 organizing protein) предотвращает доступ АТФ к сайту связывания в N-терминальном домене Hsp90 и тем самым ингибирует его АТФазную активность (Prodromou et al., 1999). Результаты анализа коэволюции функциональных доменов Hsp90, Hsp70 и Hsp свидетельствуют о консервативности молекулярного комплекса Hsp70—Hsp—Hsp90 (Travers, Fares, 2007). Trg2 индуцирует диссоциацию Hsp90 из комплекса шаперон—субстрат независимо от АТФ и, как предполагают, может участвовать в обратном переносе субстрата с Hsp90 на Hsp70 (Brychzy et al., 2003). Два TPR-домена имеет также кошаперон Tah1 — небольшой белок, недавно найденный у дрожжей (Zhao et al., 2008). Его гомолог у человека неизвестен. Предполагают, что его функции в животных клетках может выполнять один из известных TPR-белков.

Высокомолекулярные иммунофилины включают в себя две группы белков: FKBP51, FKBP52 (FK506-binding protein) и циклофилины Cyp40 (cyclophilin) — рецепторы циклоспорина А. Иммунофилины относятся к пептидил-пролил цис-транс изомеразам (PPIase). FKBP52, главный иммунофилин в комплексе Hsp90 с глюкокортикоидным рецептором, содержит кальмодулинсвязывающий домен (Callebaut et al., 1992). Показано его участие в движении глюкокортикоидного рецептора к ядру вдоль микротрубочек (Pratt et al., 1999). Дрожжевой циклофилин Cpr6 способен вытеснять кошаперон Hsp/Sti1, тем самым снимая ингибирование АТФазы (Prodromou et al., 1999). В слабосолевых условиях Cpr6 способен стимулировать АТФазную активность Hsp90 (Panaretou et al., 2002). У растений высокомолекулярные иммунофилины имеют доменную структуру, подобную таковой у животных (Owens-Grillo et al., 1996; Reddy et al., 1998). В кончиках корней пшеницы выявлены два гомолога FKBP — конститутивный белок 73 кДа и белок 77 кДа, индуцируемый тепловым шоком (Dwivedi et al., 2003). Определены их цитоплазматическая локализация при нормальных условиях и транспортировка в ядро при стрессе. На мутантах *A. thaliana* по гену *pas1* (гомолог FKBP) показано его участие в регуляторных механизмах цитокинина (Vittorioso et al., 1998).

Фосфатаза PP5/Ppt1, связываясь через TPR-домен с Hsp90, становится способной дефосфорилировать шаперон, что оказалось необходимым для его функционирования *in vivo* (Wandinger et al., 2008). Мутация по этому гену приводила к нарушению созревания некоторых субстратов у дрожжей.

Кошаперон Sgt1 (suppressor of the G₂ allele of *skp1*) связывается посредством TPR-домена с С-концом Hsp90 и через дополнительный участок — с N-концом (Takahashi et al., 2003). Интересно, что этот белок содержит участок, сходный с соответствующим участком кошаперона p23.

Небольшой кислый белок p23 относится к кошаперонам, не содержащим TPR-домена. Он специфически узнает АТФ-связанное состояние Hsp90 и, упаковываясь в желоб, образованный двумя димеризованными N-доменами,

образует с ними контакты (Obermann et al., 1998; Pearl, Prodromou, 2006). Димер Hsp90 может связать две молекулы p23 (Ali et al., 2006). Кошаперон Hsp, запрещающий доступ АТФ к N-терминальному домену, а также ингибиторы гелданамицин и радицикол противодействуют ассоциации p23 с Hsp90 (Prodromou et al., 1997). Таким образом, для взаимодействия p23 с Hsp90 необходима полная молекула шаперона в виде димера. Являясь частью шаперонного комплекса на последнем этапе АТФазного цикла, p23 сдерживает гидролиз АТФ и стабилизирует N-димеризованное состояние Hsp90 (Dittmar, Pratt, 1997). Вместе с тем в экспериментах со стероидным рецептором в качестве субстрата показано, что рецептор приобретает высокое сродство к гормону через взаимодействие поддерживающего его шаперона с p23 (Hutchison et al., 1995; Johnson, Toft, 1995). Есть данные, говорящие в пользу того, что p23 обладает самостоятельной шаперонной активностью (Bose et al., 1996). Белки Hsp и p23 кроме цитоплазмы выявлены в культуральной среде клеточной культуры фибросаркомы вместе с внеклеточным Hsp90 (Eustace, Jay, 2004).

Cdc37 (cell cycle division protein 37) в виде димера связывается с «крышечками» АТФ-связывающих сайтов димера Hsp90, находящихся в открытом состоянии, тем самым предотвращая взаимодействие с АТФ и вторичную димеризацию шаперона (Roe et al., 2004; Peral, Prodromou, 2006). Известно, что он может взаимодействовать с шапероном одновременно с одним из кошаперонов Hsp, PP5 или Aha1, но не с p23 (Pearl, 2005). Основной функцией Cdc37 является связывание Hsp90 с рядом киназ. Кроме того, этот кошаперон обладает собственной слабой шаперонной активностью (Kimura et al., 1997).

Aha1 (activator of Hsp90 ATPase1) — активатор АТФазы Hsp90. Связываясь со срединным доменом Hsp90, он вызывает конформационные изменения, усиливающие АТФазную активность шаперона более чем в 10 раз (Panaretou et al., 2002). В частности, это связывание приводит к дестабилизации каталитической петли срединного домена Hsp90 и высвобождению значимого для его каталитической активности Arg³⁸⁰ (Pearl, Prodromou, 2006).

Таким образом, АТФазный цикл Hsp90 регулируется кошаперонами p23/Sba1, Hsp/p60/Sti1, Cdc37/p50, Aha1 и Cpr6, первые три из которых ингибируют АТФазную активность шаперона, а два последних являются ее активаторами.

Rar1 (required for Mla12 resistance) связывается с N-терминальной половиной Hsp90 и, кроме того, может взаимодействовать с другим кошапероном Sgt1 (Takahashi et al., 2003). Оба эти кошаперона реагируют с R-белками растений и значимы для устойчивости против патогенной инфекции.

Получены доказательства того, что в качестве регуляторов Hsp90 может выступать ряд протеинкиназ (Picard, 2002; Wandinger et al., 2008).

У растений идентифицированы гомологи Hsp, высокомолекулярных иммунофилинов и p23 (Owens-Grillo et al., 1996; Stancato et al., 1996; Reddy et al., 1998; Krishna, Gloor, 2001; Dwivedi et al., 2003).

Субстраты Hsp90

К этой категории относят белки, у которых фолдинг, стабилизация, формирование комплексов и конформационная регуляция требуют участия Hsp90. В перечне суб-

стратов этого шаперона уже более 200 белков, крайне разнообразных по структуре и функциям. Значительную часть составляют белки различных путей передачи сигналов и контроля клеточного цикла, в том числе ядерные рецепторы, транскрипционные факторы, протеинкиназы, протеинфосфатазы, гистоны, G-белки $\beta\gamma$ и NO-синтаза (более полные перечни представлены в обзорах: Pratt, Toft, 1997; Park et al., 1998; Picard, 2002; Pearl, 2005). В большинстве случаев это показано *in vitro* с использованием животных и дрожжевых систем. В экспериментах *in vivo* доказана необходимость Hsp90 для работы рецепторов стероидных гормонов, целого ряда киназ, кальциневрина — кальмодулинзависимой протеинфосфатазы и NO-синтазы. Многие из этих мультидоменных белков требуют взаимодействия с лигандами, такими как стероидные гормоны, АТФ, циклины, геммы и Ca^{2+} -кальмодулин. Поскольку белки-клиенты Hsp90 вовлечены в важнейшие сигнальные пути клетки, они привлекают самое активное внимание в исследованиях нейродегенеративных, онкологических и сердечно-сосудистых болезней, где шаперонный комплекс Hsp90 рассматривается в качестве инструмента воздействия (Pearl, 2005; Chaudhuri, Paul, 2006; Крупская, 2009). В связи с изучением рака особое внимание исследователей в последнее время привлекает внеклеточный Hsp90, который, как полагают, регулирует активность онкобелков на поверхности клетки и тем самым участвует в передаче сигнала внутрь клетки (Eustace, Jay, 2004; Sidera, Patsavoudi, 2008).

К субстратам Hsp90 относятся также сложные белковые комплексы. Примером может служить 26S-протеасома — необычно большой комплекс (~2.5 МДа), состоящий из двух субкомплексов. Как сборка, так и поддержание структурной целостности этого комплекса требуют участия Hsp90 (Imai et al., 2003). От шаперона также зависит сборка и работа теломеразы (Kerpler et al., 2006), олигомерных комплексов секреторных путей — COG, AP-адаптора и ESCRT (McClellan et al., 2007).

В клетках дрожжей показано, что Hsp90 может модулировать биогенез РНК путем сборки и поддержания малых ядрышковых рибонуклеопротеидов (мякРНП) (Zhao et al., 2008). В выполнении этих функций шаперону assisteрует кошаперон Tah1. Hsp90, ассоциированный с Tah1, стабилизирует нестабильный белок Pih1/Nop17. Образовавшийся комплекс Hsp90—Tah1—Pih1, связывая геликазы Rvb1 и Rvb2, формирует комплекс R2TP, необходимый для аккумуляции и поддержания C/D-бокса мякРНП. Исходя из того что в клетках животных Hsp90 связывает рибосомные белки rpS3 и rpS6, предполагают его влияние на функционирование рибосом путем поддержания стабильности 40S-рибосомных белков (Kim et al., 2006). Показано также участие шаперона в стабилизации организующего актнн белка N-WASP, что способствует форсфорилированию последнего и усилению его активности в полимеризации актнн (Park et al., 2005). Hsp90 ассоциирует с белком Sgt1 на начальной стадии образования кинетохорного комплекса (Bansal et al., 2004). Предполагают, что субстратами Hsp90 являются эндоплазматические белки IRE1 и CUE1 (McClellan et al., 2007). Особое место в ряду субстратов занимают факторы теплового шока (heat shock transcription factor, Hsf). На ооцитах шпорцевой лягушки *Xenopus* показано, что при физиологических условиях цитозольные Hsp90 связывают Hsf1 в виде мономеров и тем самым препятствуют образованию тримеров, способных индуцировать экспрессию генов стрессовых белков, в том числе и Hsp90 (Ali et al.,

1998). В стрессовых условиях, по мнению разных исследователей, комплекс Hsp90 либо диссоциирует (Zou et al., 1998), либо снижает свою функциональную активность (Yamada et al., 2007), либо переключается на обслуживание возросшего количества денатурированных белков, а высвобожденные транскрипционные факторы образуют активные тримеры (Morimoto, 1998). В клетках дрожжей Hsf1 существует в виде тримеров при нормальных условиях, однако Hsp90 также подавляет его активность, а кошаперон Cyp40 assisteрует шаперону в этом процессе (Duina et al., 1998).

У растений список белков, в фолдинге и регуляции которых доказана роль Hsp90, пока значительно короче. На *A. thaliana* получены доказательства того, что цитозольные Hsp90 взаимодействуют с факторами теплового шока и подавляют их активность при нормальных условиях (Yamada et al., 2007). Показано, что шаперон ЭР Hsp90-7 необходим для работы мембранного рецепторного комплекса CLV1/CLV2/CLV3, способствующего ускорению перехода клеток стеблевой и апикальной меристем к дифференцировке (Ishiguro et al., 2002). От Hsp90 также зависит активность ряда R-белков, участвующих в реакции гиперчувствительности (Takahashi et al., 2003; Sangster, Queitsch, 2005).

Механизмы действия шаперонного комплекса Hsp90

По результатам экспериментов в неочищенных цитозольных экстрактах и в частично очищенных системах с использованием в качестве субстрата модельных белков были предложены динамические модели работы шаперонной системы Hsp90 (Smith, 1993; Pratt, Toft, 1997; Маргулис, Гужова, 2000; Pratt et al., 2001; Young et al., 2001; Grad, Picard, 2007; Pratt et al., 2008). Результаты исследований цитозольных Hsp90 эукариот указывают на то, что в фолдинге новосинтезированных белков Hsp90 кооперируется с Hsp70, принимая от него белок либо на последних стадиях фолдинга, либо уже в нативной конформации, и способствует приобретению им активного состояния. На основе шаперонной системы Hsp90/Hsp70 также осуществляется конформационная регуляция целого ряда сигнальных белков. В работах с глюкокортикоидным рецептором определили, что для приобретения им нужной конформации абсолютно необходимы только шапероны, в то же время кошапероны усиливают эффективность их работы (Morishima et al., 2000). Таким образом, для эффективной работы этой системы необходимы по меньшей мере пять компонентов: шапероны Hsp90, Hsp70 и кошапероны Hsp40, Нор и р23. Комплекс Hsp90—Нор—Hsp70—Hsp40 получил название «фолдосома».

Наиболее изученный механизм функционирования шаперонного комплекса Hsp90 со стероидными рецепторами в качестве субстрата можно представить следующим образом (рис. 3). Рецептор сначала с помощью Hsp40 образует начальный комплекс с Hsp70, находящимся в АТФ-связанном состоянии. Гидролиз АТФ стабилизирует комплекс шаперона с субстратом и одновременно способствует приобретению последнего состояния низкой аффинности к гормону, подготавливая его тем самым к ассоциации с Hsp90. Такая ассоциация осуществляется посредством белка Нор, способного независимо связать Hsp70 и Hsp90 через N-терминальный и центральный TPR-домен соответственно (Chen et al., 1996; Dittmar

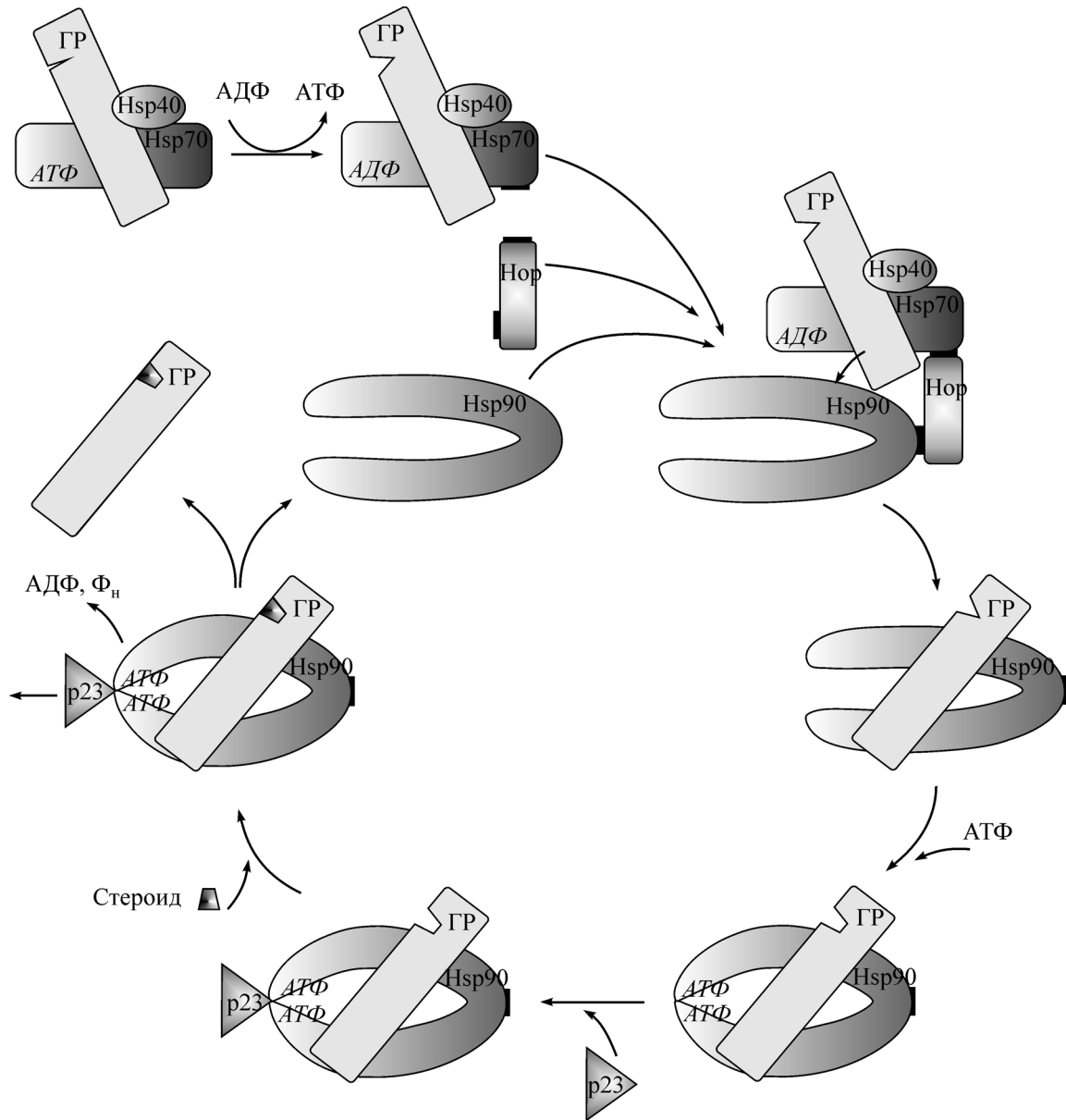


Рис. 3. Конформационная регуляция глюкокортикоидного рецептора гетерокомплексом Hsp90.

Глюкокортикоидный рецептор (ГР) с помощью Hsp40 ассоциирует с Hsp70, находящимся в АТФ-связанном состоянии, в результате чего образуется начальный комплекс. Регулируемый Hsp40 переводит Hsp70 из АТФ- в АДФ-связанную форму стабилизирует комплекс и генерирует конформационные изменения в ГР, в результате чего рецептор приобретает конформацию с низкой аффинностью к гормону. Комплекс ГР—Hsp70 связывается с Hsp90 через Hop (кошаперон с двумя TPR-доменами). В гетерокомплексе ГР—Hsp70—Hop—Hsp90 рецептор переносится на Hsp90. После высвобождения Hop и Hsp70 взаимодействие Hsp90 с АТФ приводит к его N-димеризации, что способствует приобретению ГР конформации с высокой аффинностью к гормону. Hsp90 в связанном с АТФ состоянии стабилизируется кошапероном p23. После взаимодействия с гормоном комплекс ГР—Hsp90 либо транспортируется к ядру с помощью иммунофилинов (кошаперонов с TPR-доменом), либо диссоциирует. Гидролиз АТФ приводит к диссоциации N-димера; после высвобождения АДФ и P_i Hsp90 возвращается в первоначальное состояние.

et al., 1996). Внутри образовавшегося промежуточного гетерошаперонного комплекса Hsp90—Hop—Hsp70 субстрат переносится с Hsp70 на Hsp90. После высвобождения Hop и Hsp70 Hsp90 взаимодействует с АТФ, что приводит к закрыванию молекулярного зажима (вторичной димеризации) Hsp90, в результате чего связанный с димером субстрат приобретает конформацию с высокой аффинностью к гормону. Образовавшийся «зрелый» комплекс стабилизируется путем взаимодействия с кошапероном p23 (Hutchison et al., 1995; Pratt et al., 2001, 2008). Полагают, что свободный участок связывания лиганда у рецептора претерпевает быстрые переходы между открытым и закры-

тым состояниями, а связывание гетерошаперонного комплекса с p23 продлевает время, когда участок связывания гормона остается открытым. После взаимодействия со стероидом комплекс Hsp90—рецептор переходит из стабильного в динамичное состояние. Кроме того, стабильность комплекса Hsp90—рецептор и взаимодействие его с p23 регулируются ацелированием шаперона (Pratt et al., 2008). Для прогестеронового рецептора показано, что «зрелый» шаперонный комплекс диссоциирует с $t_{1/2} \sim 5$ мин, после чего не провзаимодействовавший с лигандом рецептор снова может включиться в «первичный» комплекс (Smith, 1998).

Комплекс Hsp90—субстрат, связанный с p23, имеет свободные TPR-связывающие участки и теоретически может ассоциироваться с TPR-кошаперонами, при этом тип кошаперона, очевидно, зависит от субстрата и определяет дальнейшую судьбу белка. Например, при связывании с иммунофилином комплекс Hsp90—глюкокортикоидный рецептор будет транспортирован в ядро (Grad, Picard, 2007; Pratt et al., 2008), связывание с CHIP приведет к деградации субстратного белка через убиквитин-протеасомный путь (Connell et al., 2001) и т. д.

Подобный путь регуляции связывания белка с лигандом можно предполагать и для других лигандзависимых субстратов Hsp90, например для циклинзависимой киназы Cdk4 и гемрегулируемой киназы Akt/ПКВ. Однако есть множество доказательств того, что функционирование комплекса Hsp90 является многовариантным и не укладывается в одну-единственную модель. Например, в случае протеинкиназ, ключевым событием в активации которых является фосфорилирование активного сегмента, роль Hsp90 может состоять в стабилизации неактивной конформации белка, как это предполагается для Raf1 (Nollen, Morimoto, 2002), или в выведении его из неактивного состояния в состояние готовности к фосфорилированию, или в поддержании в активном фосфорилированном состоянии, как это показано для Akt/ПКВ (Sato et al., 2000). Кроме того, за рамками модели остается собственная способность Hsp90 к фосфорилированию, что показано *in vitro* для гистонов и казеина (Park et al., 1998). Известен также случай, когда субстратный белок служит регулятором шаперона по принципу обратной связи: эндотелиальная NO-синтаза путем S-нитрозилирования ингибирует АТФазную активность Hsp90, что в свою очередь блокирует активацию самого фермента шапероном (Martinez-Ruiz et al., 2005). Неизученными остаются процессы сборки мультибелковых комплексов с помощью Hsp90.

Анализ генома *A. thaliana* выявил нуклеотидные последовательности, кодирующие набор белков, соответствующих компонентам гетерошаперонного комплекса Hsp90 животных (Krishna, Gloor, 2001). Гетерокомплексы на основе Hsp90 найдены в растительных лизатах, показано сходство их функционирования с таковыми у животных (Reddy et al., 1998; Pratt et al., 2001). В системах *in vitro* показано, что компоненты системы Hsp90—Hsp70 различного происхождения (животного и растительного) могут работать вместе, они в высокой степени взаимозаменяемы, причем проявляют близкий уровень активности в образовании гетерокомплекса с субстратом и осуществлении шаперонных функций (Stancato et al., 1996). Например, шапероны из растительных клеток могут связываться в функциональный комплекс с кошаперонами из животных клеток (Dittmar et al., 1997). В качестве суррогатного субстрата растительного Hsp90 успешно используется глюкокортикоидный рецептор (Hutchison et al., 1995). Однако динамика процессов сборки—разборки комплекса рецептор—Hsp90 различается в экстракте из зародышей пшеницы и лизате ретикулоцитов: при близких скоростях сборки диссоциация в растительной системе происходит значительно быстрее (Stancato et al., 1996). Одной из возможных причин этого является то, что гетерокомплекс субстрат—Hsp90 растительных клеток в отличие от животных не стабилизируется молибдатом, что показано на Hsp90 пшеницы и рапса (Stancato et al., 1996; Dittmar et al., 1997).

Генная экспрессия Hsp90

Номенклатурное название Hsp90, как упоминалось выше, является следствием того, что эти белки были обнаружены в числе белков теплового шока, экспрессия которых активируется в клетках при тепловом стрессе. В этом смысле Hsp90 прокариот — HtpG — является истинным белком теплового шока: присутствуя в клетке в малом количестве в период конститутивного роста, он интенсивно накапливается в ответ на различные стрессовые воздействия (Mason et al., 1999). В противоположность ему в клетках эукариот конститутивная экспрессия Hsp90 достаточно высока, что дало основание отнести их к белкам основного метаболизма, и только в некоторой степени усиливается при стрессе (Borkovich et al., 1989; Buchner, 1999). С другой стороны, изучение динамики синтеза в культуре клеток *Drosophila* показало падение синтеза Hsp90 в течение 0.5 ч после теплового шока и его повышение выше нормального уровня в последующие 1.5—2 ч (Duncan, 2005).

Изоформы Hsp90 различаются по участию в стрессовом ответе. Геном *S. cerevisiae* содержит два гена этого семейства: *hsc82* с высоким уровнем конститутивной экспрессии и незначительной степенью индукции тепловым стрессом и *hsp82* с низким уровнем экспрессии при нормальных условиях и высокой индуцибельностью (Borkovich et al., 1989). Мутации по одному из этих генов приводят к ингибированию клеточного роста при высокой температуре, тогда как двойная мутация летальна. В клетках человека и свиньи усиление экспрессии *hsp90α* при тепловом шоке более значительное, чем *hsp90β* (Simon et al., 1987; Garnier et al., 2001). Синтез белка ЭР — Grp94 (glucose-regulated protein) индуцируется при значительной аккумуляции белков в ненативной конформации в ЭР («ER-stress»), например при глюкозном голодании или ингибировании гликозилирования (Kaufman, 1999).

Изоформы Hsp90 характеризуются ткане- и органоспецифичностью конститутивной экспрессии, ее регуляцией в ходе развития и различной чувствительностью к изменениям факторов среды. Поскольку исследования генной экспрессии Hsp90 у растений более многочисленны, чем исследования их структуры и клеточных функций, у нас есть возможность проиллюстрировать общие закономерности на примере результатов работ с растительными объектами (табл. 2). У *A. thaliana* цитозольные белки по степени их индукции тепловым стрессом составляют ряд Hsp90-1 > Hsp90-2 > Hsp90-3, Hsp90-4, а по уровню конститутивной экспрессии располагаются в обратном порядке (Yabe et al., 1994; Yamada et al., 2007). Анализ синтеза пластидной (Hsp90-5) и митохондриальной (Hsp90-6) изоформ под действием теплового шока выявил некоторую активацию синтеза только первой из них (Miloni, Hatzopoulos, 1997). А уровень генной экспрессии Hsp90-7, локализованного в ЭР, при тепловом стрессе, наоборот, снижался (Ishiguro et al., 2002). Различия в характере экспрессии различных генов при действии одного и того же стрессового фактора указывают на то, что регуляция экспрессии имеет свои особенности у каждого гена, а кодируемые ими Hsp90 выполняют специфические функции в рамках работы шаперонной системы. Следует отметить также различия в изменении экспрессии генов *hsp90* при разных видах стресса, что указывает на специфику ее регуляции различными внешними сигналами.

Т а б л и ц а 2

Экспрессия генов Hsp90 у растений

Hsp90	Клеточная локализация	Вид	Экспрессия при нормальных условиях	Изменения экспрессии при воздействиях	Литературный источник
Hsc80	Цитоплазма	<i>Lycopersicon esculentum</i>	В корневом и стеблевом апексах, оплодотворенной завязи	—	Konig et al., 1992
Hsp90	Цитоплазматические изоформы суммарно	<i>Arabidopsis thaliana</i>	—	Индукция при тепловом стрессе	Ishiguro et al., 2002
Hsp90-1	Цитоплазма	» »	В корнях	Сильная активация во всех органах при тепловом шоке, слабая — при действии 10 мМ ИУК, отсутствие — при действии 100 мМ ИУК, АБК, кинетина и 0.1 М NaCl	Yabe et al., 1994
	»	» »	Слабая в проростках	Активация при тепловом стрессе	Yamada et al., 2007
	»	» »	—	Активация при инфекции <i>Pseudomonas syringae</i>	Takahashi et al., 2007
	»	<i>L. esculentum</i>	В корнях и стебле	Органно-специфическая активация при действии As (V) и Cr (VI)	Goupil et al., 2009
Hsp90-2	»	<i>A. thaliana</i>	В корнях (от меристемы до зоны растяжения), в цветочных почках, цветках, тапетуме, пыльце (на всех стадиях развития), молодых плодах; в малом количестве — в розеточных листьях и сухих плодах	Экспрессия при обработке 10 мМ ИУК и 0.1 М NaCl, слабая экспрессия при тепловом стрессе с сохранением тканеспецифичности	Yabe et al., 1994
	»	То же	—	Индукцируется при водном дефиците	Kiyosue et al., 1994
	»	» »	Существенная в проростках	Уровень транскрипции при тепловом стрессе сохраняется	Yamada et al., 2007
	»	» »	В листьях	Активация через 3 ч после поранения листа	Quilliam et al., 2006
	»	<i>A. thaliana</i> , суспензионная культура клеток	Не детектируется	Индукцируется через 1 ч при 37 °С, достигает макс через 2.5 ч, после чего падает	Lim et al., 2006
Hsp90-3	»	<i>A. thaliana</i>	В корнях (от меристемы до зоны растяжения), в цветочных почках, цветках, тапетуме, пыльце, молодых плодах, розеточных листьях; в малом количестве — в сухих плодах	Экспрессия при обработке 10 мМ ИУК, 0.1 М кинетином, 0.1 М NaCl и 0.2 М маннитолом; слабая экспрессия при тепловом стрессе с сохранением тканеспецифичности	Yabe et al., 1994
	»	То же	Существенная в проростках	Подавляется при тепловом стрессе	Yamada et al., 2007
Hsp90-4	»	» »	То же	То же	То же
Hsp90-5	Пластиды	» »	—	Незначительно активируется при тепловом стрессе	Milioni, Hatzopoulos, 1997
Hsp90-6	Митохондрии	» »	—	Не изменяется при тепловом стрессе	То же
Hsp90-7	ЭР	» »	В корне розеточных листьях, стеблевой апикальной и флоральной меристемах	Снижается при тепловом стрессе	Ishiguro et al., 2002

Таблица 2 (продолжение)

Hsp90	Клеточная локализация	Вид	Экспрессия при нормальных условиях	Изменения экспрессии при воздействиях	Литературный источник
Hsp90	ЭР	<i>Catharanthus roseus</i>	—	Слабо индуцируется при тепловом стрессе	Schröder et al., 1993
	ЭР	<i>Gordeum</i>	—	Слабо индуцируется при патогенной инфекции	Walther-Larsen et al., 1993
osHsp80.2	Предположительно цитоплазма	<i>Oryza sativa</i> , ssp. <i>japonica</i>	Во всех органах, наивысшая в корнях	Индуцируется в течение 5 мин при 42 °С, 0.1 М NaCl или 10 % ПЭГ; подавляется через 3 ч действия 0.1 мМ АБК, не изменяется при действии 5 °С	Zou et al., 2009
osHsp74.8	?	То же	Существенная в листьях и влагалище	Индуцируется в течение 5 мин действия 42 °С; не изменяется при действии 0.1 М NaCl, 10 % ПЭГ, 0.1 мМ АБК или 5 °С	То же
osHsp50.2	?	» »	То же	Индуцируется через 15 мин действия 42 °С; не изменяется при действии 0.1 М NaCl, 10 % ПЭГ, 0.1 мМ АБК или 5 °С	» »
Hsp90	—	<i>Brassica napus</i>	—	Активация при действии низких температур	Krishna et al., 1995
	—	<i>Pharbitis nil</i>	—	Активация при фотопериодической индукции цветения	Felsheim, Das, 1992
	—	<i>Bromus inermis</i> , культура клеток	—	Активация при действии 24-эпибрассинолида	Wilen et al., 1995
	—	<i>B. napus</i> , <i>L. esculentum</i>	—	Активация в проростках при действии 24-эпибрассинолида	Dhaubhadel et al., 1999
	—	<i>Helianthus annuus</i>	—	Более сильная индукция при тепловом стрессе в теплоустойчивых гибридах по сравнению с неустойчивыми	Senthil-Kumar et al., 2007
	—	<i>O. sativa</i>	—	Активация при высоком гидростатическом давлении	Liu et al., 2008
	—	<i>Pisum sativum</i>	Существенная в проростках	Некоторая активация при действии микро- и гипергравитации	Kozeko, Kordyum, 2007, 2008

Изучение механизмов индукции белков теплового шока выявило в 5'-фланкирующей последовательности генов регуляторные элементы — элементы теплового шока (ЭТШ), состоящие из базовой nGAAn и консенсусной nTTCn последовательностей. При взаимодействии с ЭТШ факторов теплового шока Hsf в виде активных тримеров инициируется транскрипция генов *hsp* (Morimoto, 1998). Количество и особенности расположения регуляторных элементов во многом объясняют различия в характере экспрессии генов. Так, промоторы *hsp90* у животных содержат по одному ЭТШ (Amin et al., 1988). У *A. thaliana* промотор гена цитозольного белка Hsp90-3 тоже имеет один ЭТШ (Yabe et al., 1994), тогда как промоторы *hsp90-1* и *hsp90-2* — по два (Takahashi et al., 1992). К тому же у *hsp90-3* расстояние между ЭТШ и ТАТА-боксом короче, чем у *hsp90-1* и *hsp90-2* (Cohen, Meselson, 1988). Вместе с тем в промотерах *hsp90-2* и *hsp90-3* консервативная консенсусная последовательность nTTCn ЭТШ заменена на nATCn, тогда как у

hsp90-1 один из двух ЭТШ — полностью консервативный. Промотор *hsp90-7* не содержит ЭТШ, и это может быть причиной снижения его транскрипции при тепловом стрессе (Ishiguro et al., 2002).

Кроме того, экспрессия *hsp90* (как и *hsp70*) моделируется с помощью транскрипционных факторов STAT-1 и STAT-3, что может быть важно как в стрессовых, так и в нестрессовых условиях (Stephanou et al., 1999).

Физиологическая роль Hsp90

Исходя из особенностей шаперонной активности, субстратов и характера экспрессии Hsp90 можно говорить о защитной и регуляторной функциях этого семейства. Согласно общепринятой концепции стресса, Hsp90, как и все белки теплового шока, участвуют в неспецифической стрессовой реакции клетки. Активация их синтеза показана при действии стрессовых факторов различной

природы, включая высокую и низкую температуры, водный, солевой и осмотический стресс, действие тяжелых металлов, поранение, высокое гидростатическое давление, измененную гравитацию и действие патогенной инфекции (табл. 2). Генетически детерминированную устойчивость к тепловому стрессу связывают со способностью организма к усиленному накоплению белков теплового шока в процессе акклимации (Senthil-Kumar et al., 2007).

Множественная роль шаперонов в ответе клетки на стресс отмечалась ранее, главным образом на примере Hsp70 (Маргулис, Гужова, 2009). Роль Hsp90 в неспецифической стрессовой реакции организма двояка: во-первых, они участвуют в контроле качества белка, защищая в кооперации с другими шаперонами белки с нарушенной конформацией от агрегации либо направляя их к протеасомам для протеолиза; но что более важно, связывая факторы теплового шока, они контролируют индукцию генов белков теплового шока, а значит, и стресс-реакцию в целом. Последнее получило свое подтверждение в недавних работах по изучению механизмов теплоустойчивости. Обработка ингибиторами Hsp90 запускала в культуре клеток *Drosophila* стрессовый ответ без действия теплового шока и замедляла восстановление клеток после теплового воздействия (Duncan, 2005). Авторы полагают, что Hsp90 совместно с Hsp70 контролирует выход клетки из стрессового состояния и переход к нормальной жизнедеятельности, включая прекращение индуцированного синтеза белков теплового шока и возобновление синтеза белков основного метаболизма. Тем самым найдено важное звено в авторегуляции стрессовой реакции. Кроме того, ингибиторы Hsp90 индуцировали у проростков *A. thaliana* устойчивость к высокой температуре без предварительной тепловой обработки (Yamada et al., 2007). Изучение механизмов показало, что ингибиторы вызывают высвобождение Hsf и активацию генов, индуцируемых при тепловом стрессе, в том числе генов ряда Hsf и Hsp90-1. С другой стороны, усиленное накопление Hsp90 в цитоплазме и органеллах сопровождалось повышением чувствительности *A. thaliana* к засухе и солевому стрессу (Song et al., 2009).

Обнаружение Hsp90 и его отдельных кошаперонов во внеклеточном пространстве позволило говорить об их роли в инвазии раковых клеток (Eustace, Jay, 2004; Sidera, Patsavoudi, 2008).

Способность Hsp90 к регуляции активности белков сигнальных путей неизбежно приводит к выводу о его значении в регуляции процессов роста и развития. Подтверждением этому служат, в частности, данные о значении комплекса Hsp90 с высокомолекулярными иммунофилинами FKBP в модуляции циркадных ритмов животных в ответ на внешние сигналы (Yan et al., 2008). Кроме того, известно, что нарушение структуры и функций Hsp90, не являясь летальным для эукариот, приводит к определенным расстройствам нормального роста клеток, тканей и органов. Исследования этого феномена, инициированные работой (Rutherford, Lindquist, 1998), проводятся путем фармакологического ингибирования функционирования белков семейства или путем «выключения» экспрессии отдельного гена с помощью мутаций или малой интерферирующей РНК. Нарушения у *Drosophila*, развивавшиеся на среде с гелданамицином, затрагивали практически все части тела и заключались в изменении количества органов и их трансформациях (Rutherford, Lindquist, 1998). К морфологическим изменениям у проростков *A. thaliana*, вызванным ингибированием Hsp90, относятся

изменения размеров, формы, цвета семядольных и настоящих листьев, формы и длины гипокотыля, морфологии корня и пространственной ориентации проростков (Queitsch et al., 2002). Нарушение экспрессии отдельных генов цитозольных Hsp90 приводит к сходным фенотипическим изменениям, включающим в себя морфологические изменения, время цветения, плодоношение и в результате резкое снижение стабильности развития (Samakovli et al., 2007; Sangster et al., 2007). Мутация хлоропластного белка Hsp90-5 вызывает изменение реакции на красный свет и замедление развития хлоропластов (Cao et al., 2003). У мутанта *shepherd* по эндоплазматическому белку Hsp90-7 отмечены расширенные апикальные стеблевая и флоральная меристемы, дезорганизованная корневая меристема и нарушения в росте пыльцевой трубки (Ishiguro et al., 2002).

В связи с этим была высказана гипотеза о том, что источником изменений могут быть аллели белков, нормальное функционирование которых зависит от работы Hsp90 в качестве «конформационного буфера» (Rutherford, Lindquist, 1998). Согласно этой гипотезе, Hsp90 скрывает генетические вариации путем поддержания у мутантных белков конформации дикого типа. Другой источник фенотипической варибельности видят в стохастических процессах развития (Samakovli et al., 2007; Sangster et al., 2007). В этом случае роль шаперона может состоять в стабилизации процессов развития посредством регуляции белков сигналинга. Подобное фенотипическое разнообразие может появляться при значительных изменениях экологических факторов, когда количество потенциальных клиентов шаперона превышает то, которое способен обслужить клеточный пул Hsp90, и в результате скрытые изменения конформации белков становятся явными. В свою очередь природный отбор проявившихся фенотипов может быть частью эволюционного процесса.

Заключение

В завершение хотелось бы отметить следующее. Сравнение структуры и функций высококонсервативного семейства молекулярных шаперонов Hsp90 организмов различного уровня организации — от бактерий до животных и растений — показывает явное усложнение структуры его функциональных доменов и увеличение функциональной нагрузки. Hsp90 функционируют АТФ-зависимым образом в комплексе с другими шаперонами и кошаперонами, образуя вместе сложную многофункциональную молекулярную машину. Отличительными особенностями Hsp90 являются субстратная специфичность и большое количество кошаперонов. Постоянно растущий список субстратов включает в себя сложные мультидоменные белки и большие белковые комплексы, участвующие в различных путях передачи внутриклеточных сигналов, регуляции клеточного цикла, контроле качества белка и стрессового ответа. Кроме того, Hsp90 способны выходить во внеклеточное пространство и, по-видимому, участвовать в восприятии внешних сигналов и передаче их внутрь клетки.

При осуществлении конформационной регуляции белков Hsp90, очевидно, могут: 1) контролировать их активность, 2) способствовать сокрытию определенных генетических вариаций, 3) канализировать стохастические процессы. Участвуя вместе с другими шаперонами в

стрессовой реакции клетки, Hsp90, по-видимому, играет решающую роль в процессе авторегуляции этой реакции. Таким образом, функционирование Hsp90 как специализированного молекулярного шаперона занимает значимое место в клеточных процессах и в конечном счете интегрировано в онтогенетическое и эволюционное развитие организмов.

Еще раз хочется подчеркнуть, что расшифровка структуры и функций Hsp90 в подавляющем большинстве работ проводится с использованием животных и дрожжевых клеток. У растений комплекс Hsp90, субстраты и метаболические пути, в которых он участвует, изучены в гораздо меньшей степени. Тем не менее наличие у растений Hsp90 различной внутриклеточной локализации, высокий уровень их гомологии с белками других организмов, идентификация отдельных компонентов шаперонного комплекса и его субстратов как экспериментальным путем, так и по результатам анализа растительных геномов, функциональная взаимозаменяемость компонентов растительных и животных клеток — все это подтверждает наличие у растений шаперонного комплекса Hsp90, по компонентному составу и функционированию подобного таковому у других организмов, в частности у животных. Особенности Hsp90 растений является наличие пластидного белка и предположительно множественность цитозольных изоформ.

Список литературы

- Крупская И. В. 2009. Молекулярный шаперон Hsp90: структура, функции и участие в кардиоваскулярной патологии. Биополимеры і клітина. 25 (5) : 372—383.
- Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2000. Белки стресса в эукариотической клетке. Цитология. 42 (4) : 323—342.
- Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2009. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс. Цитология. 51 (3) : 219—228.
- Ali A., Bharadwaj S., O'Carroll R., Ovsenek N. 1998. Hsp90 interacts with and regulates the activity of heat shock factor 1 in *Xenopus* oocytes. Mol. Cell. Biol. 18 : 4949—4960.
- Ali M. M., Roe S. M., Vaughan C. K., Meyer P., Panaretou B., Piper P. W., Prodromou C., Pearl L. H. 2006. Crystal structure of an Hsp90-nucleotide-p23/Sba1 closed chaperone complex. Nature. 440 : 1013—1017.
- Amin J., Ananthan J., Voellmy R. 1988. Key features of heat shock regulatory elements. Mol. Cell. Biol. 8 : 3761—3769.
- Bansal P. K., Abdulle R., Kitagawa K. 2004. Sgt1 associates with Hsp90: an initial step of assembly of the core kinetochore complex. Mol. Cell. Biol. 24 : 8060—8079.
- Bardwell J. C. A., Craig E. A. 1988. Ancient heat shock gene is dispensable. J. Bacteriol. 7 : 2977—2983.
- Borkovich K. A., Ferrelly F. W., Finkelstein D. B., Tauliey J., Lindquist S. 1989. Hsp82 is an essential protein that is required in higher concentrations for growth of cells at higher temperatures. Mol. Cell. Biol. 9 : 3919—3930.
- Bose S., Weigl T., Bügl H., Buchner J. 1996. Chaperone function of Hsp90-associated proteins. Science. 274 : 1715—1717.
- Brychzy A., Rein T., Winkhofer K. F., Hartl F. U., Young J. C., Obermann W. M. J. 2003. Cofactor Tpr2 combines two TPR domains and a J domain to regulate the Hsp70/Hsp90 chaperone system. EMBO J. 22 : 3613—3623.
- Buchner J. 1999. Hsp90 & Co. — a holding for folding. Trends Biochem. Sci. 24 : 136—141.
- Callebaut I., Renoir J. M., Lebeau M.-C., Massol N., Burny A., Baulieu E.-E., Mornon J. P. 1992. An immunophilin that binds Mr 90,000 heat shock protein: main structural features of a mammalian p59 protein. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 89 : 6270—6274.
- Cao D., Froehlich J. E., Zhang H., Cheng C. L. 2003. The chlorate-resistant and photomorphogenesis-defective mutant *cr88* encodes a chloroplast-targeted HSP90. Plant J. 33 : 107—118.
- Carrello A., Ingley E., Minchin R. F., Tsai S., Ratajczak T. 1999. The common tetratricopeptide repeat acceptor site for steroid receptor-associated immunophilins and Hop is located in the dimerization domain of Hsp90. J. Biol. Chem. 274 : 2682—2689.
- Chaudhuri T. K., Paul S. 2006. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. FEBS J. 273 : 1331—1349.
- Chen S., Prapapanich V., Rimerman R. A., Honore B., Smith D. F. 1996. Interactions of p60, a mediator of progesterone receptor assembly, with heat shock proteins Hsp90 and Hsp70. Mol. Endocrinol. 10 : 682—693.
- Chen S., Smith D. F. 1998. Hop as an adaptor in the heat shock protein 70 (Hsp70) and hsp90 chaperone machinery. J. Biol. Chem. 273 : 35 194—35 200.
- Cohen R. S., Meselson M. 1988. Periodic interactions of heat shock transcriptional elements. Nature. 392 : 856—858.
- Connell P., Ballinger C. A., Jiang J., Wu Y., Thompson L. J., Hohfeld J., Patterson C. 2001. The co-chaperone CHIP regulates protein triage decisions mediated by heat-shock proteins. Nat. Cell Biol. 3 : 93—96.
- Crookes W. J., Olsen L. J. 1998. The effects of chaperones and the influence of protein assembly on peroxisomal protein import. J. Biol. Chem. 273 : 17 236—17 242.
- Dhaubhadel S., Chaudhary S., Dobinson K. F., Krishna P. 1999. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. Plant Mol. Biol. 40 : 333—342.
- Dittmar K. D., Demady D. R., Stancato L. F., Krishna P., Pratt W. B. 1997. Folding of the glucocorticoid receptor by the heat shock protein (hsp) 90-based chaperone machinery. J. Biol. Chem. 272 : 21 213—21 220.
- Dittmar K. D., Hutchison K. A., Owens-Grillo J. K., Pratt W. B. 1996. Reconstitution of the steroid receptor-hsp90 heterocomplex assembly system of rabbit reticulocyte lysate. J. Biol. Chem. 271 : 12 833—12 839.
- Dittmar K. D., Pratt W. B. 1997. Folding of the glucocorticoid receptor by the reconstituted hsp90-based chaperone machinery. J. Biol. Chem. 272 : 13 047—13 054.
- Duina A. A., Kalton H. M., Gaber R. F. 1998. Requirement for Hsp90 and a CyP-40-type cyclophilin in negative regulation of the heat shock response. J. Biol. Chem. 273 : 18 974—18 978.
- Duncan R. F. 2005. Inhibition of Hsp90 function delays and impairs recovery from heat shock. FEBS J. 272 : 5244—5256.
- Dutta R., Inouye M. 2000. GHKL, an emergent ATPase/kinase superfamily. Trends Biochem. Sci. 25 : 24—28.
- Dwivedi R. S., Breiman A., Herman E. M. 2003. Differential distribution of the cognate and heat-stress-induced isoforms of high M_r *cis-trans* prolyl peptidyl isomerase (FKPB) in the cytoplasm and nucleoplasm. J. Exp. Bot. 54 : 2679—2689.
- Eustace B. K., Jay D. G. 2004. Extracellular roles for the molecular chaperone, hsp90. Cell Cycle. 3 : 1098—1100.
- Felsheim R. F., Das A. 1992. Structure and expression of heat-shock protein 83 gene of *Pharbitis nil*. Plant Physiol. 100 : 1764—1771.
- Freeman B. C., Morimoto R. I. 1996. The human cytosolic molecular chaperones hsp90, hsp70 (hsc70) and hdj-1 have distinct roles in recognition of a non-native protein and protein refolding. EMBO J. 15 : 2969—2979.
- Galigniana M. D., Scruggs J. L., Herrington J., Welsh M. J., Carter-Su C., Housley P. R., Pratt W. B. 1998. Heat shock protein 90-dependent (geldanamycin-inhibited) movement of the glucocorticoid receptor through the cytoplasm to the nucleus requires intact cytoskeleton. Mol. Endocrinol. 12 : 1903—1913.
- Garnier C., Lafitte D., Jorgensen T. J. D., Jensen O. N., Briand C., Peyrot V. 2001. Phosphorylation and oligomerization states of native pig brain HSP90 studied by mass spectrometry. Eur. J. Biochem. 268 : 2402—2407.

- Goes F. S., Martin J. 2001. Hsp90 chaperone complexes are required for the activity and stability of yeast protein kinases Mik1, Wee1 and Swe1. *Eur. J. Biochem.* 268 : 2281—2289.
- Goupil P., Souguir D., Ferjani E., Faure O., Hitmi A., Le-doigt G. 2009. Expression of stress-related genes in tomato plants exposed to arsenic and chromium in nutrient solution. *J. Plant Physiol.* 166 : 1446—1452.
- Grad I., Picard D. 2007. Glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones. *Mol. Cell. Endocrinol.* 275 : 2—12.
- Gupta R. S. 1995. Phylogenetic analysis of the 90kD heat shock family of protein sequences and an examination of the relationship among animals, plants and fungi species. *Mol. Biol. Evol.* 12 : 1063—1073.
- Helmbrecht K., Zeise E., Rensing L. 2000. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: a review. *Cell Prolif.* 33 : 341—365.
- Hutchison K. A., Stancato L. F., Owens Grillo J. K., Johnson J. L., Krishna P., Toft D. O., Pratt W. B. 1995. The 23-kDa acidic protein in reticulocyte lysate is the weakly bound component of the hsp foldosome that is required for assembly of the glucocorticoid receptor into a functional heterocomplex with hsp90. *J. Biol. Chem.* 270 : 18 841—18 847.
- Imai J., Maruya M., Yashiroda H., Yahara I., Tanaka K. 2003. The molecular chaperone Hsp90 plays a role in the assembly and maintenance of the 26S proteasome. *EMBO J.* 22 : 3557—3567.
- Ishiguro S., Watanabe Y., Ito N., Nonaka H., Takeda N., Sakai T., Kanaya H., Okada K. 2002. SHEPHERD is the *Arabidopsis* GRP94 responsible for the formation of functional CLAVATA proteins. *EMBO J.* 21 : 898—908.
- Jakob U., Lilie H., Meyer I., Buchner J. 1995. Transient interaction of hsp90 with early unfolding intermediates of citrate synthase-implications for heat shock *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 270 : 7288—7294.
- Johnson B. D., Chadli A., Felts S. J., Bouhouche I., Catelli M. G., Toft D. O. 2000. Hsp90 chaperone activity requires the full-length protein and interaction among its multiple domains. *J. Biol. Chem.* 275 : 32 499—32 507.
- Johnson J. L., Toft D. O. 1995. Binding of p23 and Hsp90 during assembly with progesterone-receptor. *Mol. Endocrinol.* 9 : 670—678.
- Kaufman R. J. 1999. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Develop.* 13 : 1211—1233.
- Keppler B. R., Grady A. T., Jarstfer M. B. 2006. The biochemical role of the heat shock protein 90 chaperone complex in establishing human telomerase activity. *J. Biol. Chem.* 281 : 19 840—19 848.
- Kim T.-S., Jang C.-Y., Kim H. D., Lee J. Y., Ahn B.-Y., Kim J. 2006. Interaction of Hsp90 with ribosomal proteins protects from ubiquitination and proteasome-dependent degradation. *Mol. Biol. Cell.* 17 : 824—833.
- Kimura Y., Rutherford S. L., Miyata Y., Yahara I., Freeman B. C., Yue L., Morimoto R. I., Lindquist S. 1997. Cdc37 is a molecular chaperone with specific functions in signal transduction. *Genes Develop.* 11 : 1775—1785.
- Kishimoto J., Fukuma Y., Mizuno A., Nemoto T. K. 2005. Identification of the pentapeptide constituting a dominant epitope common to all eukaryotic heat shock protein 90 molecular chaperones. *Cell Stress & Chaperones.* 10 : 296—311.
- Kiyosue T., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 1994. Cloning of cDNAs for genes that are early-responsive to dehydration stress (ERDs) in *Arabidopsis thaliana* L.: identification of three ERDs as Hsp cognate genes. *Plant Mol. Biol.* 25 : 791—798.
- Koning A. J., Rose R., Comai L. 1992. Developmental expression of tomato heat-shock cognate protein 80. *Plant Physiol.* 100 : 801—811.
- Kovacs J. J., Murphy P. J., Gaillard S., Zhao X., Wu J. T., Nicchitta C. V., Yoshida M., Toft D. O., Pratt W. B., Yao T. P. 2005. HDAC6 regulates Hsp90 acetylation and chaperone-dependent activation of glucocorticoid receptor. *Mol. Cell.* 18 : 601—607.
- Kozeko L. Ye., Kordyum E. L. 2007. Heat shock proteins Hsp70 and Hsp90 in pea seedlings under clinorotation of different duration. *J. Gravitational Physiol.* 14 : 115—116.
- Kozeko L., Kordyum E. 2008. Effect of hypergravity on the level of heat shock proteins 70 and 90 in pea seedlings. *Microgravity Sci. Technol.* 21 : 175—178.
- Krishna P., Gloor G. 2001. The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress & Chaperones.* 6 : 238—246.
- Krishna P., Reddy R. K., Sacco M., Frappier J. R., Felsheim R. F. 1997. Analysis of the native forms of the 90 kDa heat shock protein (Hsp90) in plant cytosolic extracts. *Plant Mol. Biol.* 33 : 457—466.
- Krishna P., Sacco M., Cherutti J. F., Hill S. 1995. Cold-induced accumulation of Hsp90 transcripts in *Brassica napus*. *Plant Physiol.* 107 : 915—923.
- Lai B.-T., Chin N. W., Stanek A. E., Keh W., Lanks K. W. 1984. Quantitation and intracellular localization of the 85K heat shock protein by using monoclonal and polyclonal antibodies. *Mol. Cell. Biol.* 4 : 2802—2810.
- Lange B. M. H., Bachi A., Wilm M., González C. 2000. Hsp90 is a core centrosomal component and is required at different stages of the centrosome cycle in *Drosophila* and vertebrates. *EMBO J.* 19 : 1252—1262.
- Lee A. S. 2001. The glucose-regulated proteins: stress induction and clinical application. *Trends Biochem.* 26 : 504—510.
- Legagneux V., Morange M., Bensaude O. 1991. Heat shock increases turnover of 90 kDa heat shock protein phosphate groups in HeLa cells. *FEBS Lett.* 291 : 359—362.
- Lim C. J., Yang K. A., Hong J. K., Choi J. S., Yun D.-J., Hong J. C., Chung W. S., Lee S. Y., Cho M. J., Lim C. O. 2006. Gene expression profiles during heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* suspension-culture cells. *J. Plant Res.* 119 : 373—383.
- Liu X., Zang M., Duan J., Wu K. 2008. Gene expression analysis of germinating rice seeds responding to high hydrostatic pressure. *J. Plant Physiol.* 167 : 1855—1864.
- Marcu M. G., Chadli A., Bouhouche I., Catelli M., Neckers L. M. 2000. The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone. *J. Biol. Chem.* 275 : 37 181—37 186.
- Martínez-Ruiz A., Villanueva L., González de Orduña C., López-Ferrer D., Higuera M. A., Tarín C., Rodríguez-Crespo I., Vázquez J., Lamas S. 2005. S-nitrosylation of Hsp90 promotes the inhibition of its ATPase and endothelial nitric oxide synthase regulatory activities. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102 : 8525—8530.
- Maruya M., Sameshima M., Nemoto T., Yahara I. 1999. Monomer arrangement in HSP90 dimer as determined by decoration with N and C-terminal region specific antibodies. *J. Mol. Biol.* 285 : 903—907.
- Mason C. A., Dunner J., Indra P., Colangelo T. 1999. Heat-induced expression and chemically induced expression of the *Escherichia coli* stress protein HtpG are affected by the growth environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 : 3433—3440.
- McClellan A. J., Xia Y., Deutschbauer A. M., Davis R. W., Gerstein M., Frydman J. 2007. Diverse cellular functions of the Hsp90 molecular chaperone uncovered using system approaches. *Cell.* 131 : 121—135.
- McLaughlin S. H., Smith H. W., Jackson S. E. 2002. Stimulation of the weak ATPase activity of human Hsp90 by a client protein. *J. Mol. Biol.* 315 : 787—798.
- Meyer P., Prodromou C., Hu B., Vaughan C., Roe S. M., Panaretou B., Piper P. W., Pearl L. H. 2003. Structural and functional analysis of the middle segment of Hsp90: implications for ATP hydrolysis and client-protein and co-chaperone interactions. *Mol. Cell.* 11 : 647—658.
- Milioni D., Hatzopoulos P. 1997. Genomic organization of Hsp90 gene family in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* 35 : 955—961.
- Minami M., Nakamura M., Emori Y., Minami Y. 2001. Both the N- and C-terminal chaperone sites of Hsp90 participate in protein refolding. *Eur. J. Biochem.* 268 : 2520—2524.

- Minami Y., Kawasaki H., Minami M., Tanahashi N., Tanaka K., Yahara I. 2000. A critical role for the proteasome activator PA28 in the Hsp90-dependent protein refolding. *J. Biol. Chem.* 275 : 9055—9061.
- Minami Y., Kawasaki H., Miyata Y., Suzuki K., Yahara I. 1991. Analysis of native forms and isoform compositions of the mouse 90-kDa heat shock protein, HSP90. *J. Biol. Chem.* 266 : 10 099—10 103.
- Minami Y., Kimura Y., Kawasaki H., Suzuki K., Yahara I. 1994. The carboxy-terminal region of mammalian HSP90 is required for its dimerization and function *in vivo*. *Mol. Cell. Biol.* 14 : 1459—1464.
- Miyata Y., Yahara I. 1992. The 90-kDa heat shock protein, HSP90, binds and protects casein kinase II from self-aggregation and enhances its kinase activity. *J. Biol. Chem.* 267 : 7042—7047.
- Morimoto R. I. 1998. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes Develop.* 12 : 3788—3796.
- Morishima Y., Kanelakis K. C., Silverstein A. M., Dittmar K. D., Estrada L., Pratt W. B. 2000. The hsp organizer protein Hop enhances the rate of but is not essential for glucocorticoid receptor folding by the multiprotein hsp90-based chaperone system. *J. Biol. Chem.* 275 : 6894—6900.
- Nathan D. F., Lindquist S. 1995. Mutational analysis of hsp90 function: interactions with a steroid receptor and a protein kinase. *Mol. Cell. Biol.* 15 : 3917—3925.
- Nathan D. F., Vos M. H., Lindquist S. 1997. *In vivo* functions of the *Saccharomyces cerevisiae* Hsp90 chaperone. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 94 : 12 949—12 956.
- Nemoto T., Ohara-Nemoto Y., Ota M., Takagi T., Yokoyama K. 1995. Mechanism of dimer formation of the 90-kDa heat-shock protein. *Eur. J. Biochem.* 233 : 1—8.
- Nollen E. A. A., Morimoto R. I. 2002. Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing «heat shock» proteins. *J. Cell Sci.* 115 : 2809—2816.
- Obermann W. M. J., Sondermann H., Russo A. A., Pavletich N. P., Hartl F. U. 1998. *In vivo* function of Hsp90 is dependent on ATP binding and ATP hydrolysis. *J. Cell Biol.* 143 : 901—910.
- Owens-Grillo J. K., Stancato L. F., Hoffmann K., Pratt W. B., Krishna P. 1996. Binding of immunophilins to the 90 kDa heat shock protein (Hsp90) via a tetratricopeptide repeat domain is a conserved protein interaction in plants. *Biochemistry.* 35 : 15 249—15 255.
- Panaretou B., Prodromou C., Roe S. M., O'Brien R., Ladbury J. E., Piper P. W., Pearl L. H. 1998. ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the Hsp90 molecular chaperone *in vivo*. *EMBO J.* 17 : 4829—4836.
- Panaretou B., Siligardi G., Meyer P., Maloney A., Sullivan J. K., Singh S., Millson S. H., Clarke P. A., Naaby-Hansen S., Stein R., Cramer R., Mollapour M., Workman P., Piper P. W., Pearl L. H., Prodromou C. 2002. Activation of the ATPase activity of Hsp90 by the stress regulated cochaperone Aha1. *Mol. Cell.* 10 : 1307—1318.
- Park M., Yong Kang C., Krishna P. 1998. *Brassica napus* hsp90 can autophosphorylate and phosphorylate other protein substrates. *Mol. Cell. Biochem.* 185 : 33—38.
- Park S. J., Suetsugu S., Takenawa T. 2005. Interaction of Hsp90 to N-WASP leads to activation and protection from proteasome-dependent degradation. *EMBO J.* 24 : 1557—1570.
- Passinen S., Valkila J., Manninen T., Syväälä H., Ylikomi T. 2001. The C-terminal half of Hsp90 is responsible for its cytoplasmic localization. *Eur. J. Biochem.* 268 : 5337—5342.
- Pearl L. H. 2005. Hsp90 and Cdc37 — a chaperone cancer conspiracy. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 15 : 55—61.
- Pearl L. H., Prodromou C. 2000. Structure and *in vivo* function of Hsp90. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 10 : 46—51.
- Pearl L. H., Prodromou C. 2006. Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery. *Annu. Rev. Biochem.* 75 : 271—294.
- Picard D. 2002. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. *Cell. Mol. Life Sci.* 59 : 1640—1648.
- Picard D., Khursheed B., Garabedian M. J., Fortin M. G., Lindquist S., Yamamoto K. R. 1990. Reduced levels of hsp90 compromise steroid receptor action *in vivo*. *Nature.* 348 : 166—168.
- Pratt W. B., Krishna P., Olsen L. 2001. Hsp90-binding immunophilins in plants: the protein movers. *Trends in Plant Sci.* 6 : 54—58.
- Pratt W. B., Morishima Y., Osawa Y. 2008. The Hsp90 chaperone machinery regulates signaling by modulating ligand binding clefts. *J. Biol. Chem.* 283 : 22 885—22 889.
- Pratt W. B., Silverstein A. M., Galigniana M. D. 1999. A model for the cytoplasmic trafficking of signaling proteins involving the hsp90-binding immunophilins and p50^{cdc37}. *Cell. Signal.* 11 : 839—851.
- Pratt W. B., Toft D. O. 1997. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr. Rev.* 18 : 306—360.
- Prodromou C., Panaretou B., Chohan S., Siligardi G., O'Brien R., Ladbury J. E., Roe S. M., Piper P. W., Pearl L. H. 2000. The ATPase cycle of Hsp90 drives a molecular «clamp» via transient dimerization of the N-terminal domains. *EMBO J.* 19 : 4383—4392.
- Prodromou C., Roe S. M., O'Brien R., Ladbury J. E., Piper P. W., Pearl L. H. 1997. Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone. *Cell.* 90 : 65—75.
- Prodromou C., Siligardi G., O'Brien R., Woolfson D. N., Regan L., Panaretou B., Ladbury J. E., Piper P. W., Pearl L. H. 1999. Regulation of hsp90 ATPase activity by tetratricopeptide repeat (TPR)-domain co-chaperones. *EMBO J.* 18 : 754—762.
- Queitsch C., Sangster T. A., Lindquist S. 2002. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature.* 417 : 618—624.
- Quilliam R. S., Swarbrick P. J., Scholes J. D., Rolfe S. A. 2006. Imaging photosynthesis in wounded leaves of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 57 : 55—69.
- Ramsey A. J., Russell L. C., Whitt S. R., Chinkers M. 2000. Overlapping sites of tetratricopeptide repeat protein binding and chaperone activity in heat shock protein 90. *J. Biol. Chem.* 275 : 17 857—17 862.
- Reddy R. A., Kurek K. I., Silverstein A. M., Chinkers M., Breiman A., Krishna P. 1998. High-molecular weight FK506-binding proteins are components of heat-shock protein 90 heterocomplexes in wheat germ lysate. *Plant Physiol.* 118 : 1395—1401.
- Richter K., Muschler P., Hainzl O., Buchner J. 2001. Coordinated ATP hydrolysis by the Hsp90 dimer. *J. Biol. Chem.* 276 : 33 689—33 696.
- Roe S. M., Ali M. M., Meyer P., Vaughan C. K., Panaretou B., Piper P. W., Prodromou C., Pearl L. H. 2004. The mechanism of Hsp90 regulation by the protein kinase-specific cochaperone p50^{cdc37}. *Cell.* 116 : 87—98.
- Rutherford S. L., Lindquist S. 1998. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature.* 396 : 336—342.
- Samakovli D., Thanou A., Valmas C., Hatzopoulos P. 2007. Hsp90 canalizes developmental perturbation. *J. Exp. Bot.* 58 : 3515—3524.
- Sangster T. A., Bahrami A., Wilczek A., Watanabe E., Schellenberg K., McLellan C., Kelley A., Kong S. W., Queitsch C., Lindquist S. 2007. Phenotypic diversity and altered environmental plasticity in *Arabidopsis thaliana* with reduced Hsp90 levels. *PLoS ONE.* 7 : 1—15.
- Sangster T. A., Queitsch C. 2005. The HSP90 chaperone complex, an everging force in plant development and phenotypic plasticity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8 : 86—92.
- Sato S., Fujita N., Tsurui T. 2000. Modulation of Akt kinase activity by binding to Hsp90. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97 : 10 832—10 837.
- Scheibel T., Siegmund H. I., Jaenicke R., Ganz P., Lilie H., Buchner J. 1999. The charged region of Hsp90 modulates the function of the N-terminal domain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 1297—1302.

- Scheibel T., Weikl T., Buchner J. 1998. Two chaperone sites in Hsp90 differing in substrate specificity and ATP dependence. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95 : 1495—1499.
- Scheufler C., Brinker A., Bourenkov G., Pegoraro S., Moroder L., Bartunik H., Hartl F. U., Moarefi I. 2000. Structure of TPR domain-peptide complexes: critical elements in the assembly of the Hsp70—Hsp90 multichaperone machine. *Cell.* 101 : 199—210.
- Schröder G., Beck M., Eichel J., Vetter H.-P., Schröder J. 1993. Hsp90 homologue from Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus*): cDNA sequence, regulation of protein expression and location in the endoplasmic reticulum. *Plant Mol. Biol.* 23 : 583—594.
- Senthil-Kumar M., Kumar G., Srikanthbabu V., Udayakumar M. 2007. Assessment of variability in acquired thermotolerance: potential option to study genotypic response and the relevance of stress genes. *J. Plant Physiol.* 164 : 111—125.
- Sidera K., Patsavoudi E. 2008. Extracellular HSP90: conquering the cell surface. *Cell Cycle.* 7 : 1564—1568.
- Simon M. C., Kitchener K., Kao H.-T., Hickey E., Weber L., Voellmy R., Heintz N., Nevins J. R. 1987. Selective induction of human heat-shock protein gene transcription by the adenovirus E1A gene products, including the 12S E1A product. *Mol. Cell. Biol.* 7 : 2884—2890.
- Smith D. F. 1993. Dynamics of heat shock protein 90-progesterone receptor binding and the disactivation loop model for steroid receptor complexes. *Mol. Endocrinol.* 7 : 1418—1429.
- Smith D. F. 1998. Sequence motifs shared between chaperone components participating in the assembly of progesterone receptor complexes. *Biol. Chem.* 379 : 283—288.
- Smith D. F., Whitesell L., Nair S. C., Chen S., Prapapanich V., Rimerman R. A. 1995. Progesterone receptor structure and function altered by geldanamycin, an hsp90-binding agent. *Mol. Cell. Biol.* 15 : 6804—6812.
- Song H., Zhao R., Fan P., Wang X., Chen X., Li Y. 2009. Overexpression of AtHsp90.2, AtHsp90.5 and AtHsp90.7 in *Arabidopsis thaliana* enhances plant sensitivity to salt and drought stresses. *Planta.* 229 : 955—964.
- Söti C., Rácz A., Csermely P. 2002. A nucleotide-dependent molecular switch controls ATP binding at the C-terminal domain of Hsp90: N-terminal nucleotide binding unmasks a C-terminal binding pocket. *J. Biol. Chem.* 277 : 7066—7075.
- Stancato L. F., Hutchison K. A., Krishna P., Pratt W. B. 1996. Animal and plant cell lysates share a conserved chaperone system that assembles the glucocorticoid receptor into a functional heterocomplex with hsp90. *Biochemistry.* 35 : 554—561.
- Stavreva D. A., Müller W. G., Hager G. L., Smith C. L., McNally J. G. 2004. Rapid glucocorticoid receptor exchange at a promoter is coupled to transcription and regulated by chaperones and proteasomes. *Mol. Cell. Biol.* 24 : 2682—2697.
- Stephanou A., Isenberg D. A., Nakajima K., Latchman D. S. 1999. Signal transducer and activator of transcription-1 and heat shock factor-1 interact and activate the transcription of the Hsp-70 and Hsp-90 α gene promoters. *J. Biol. Chem.* 274 : 1723—1728.
- Takahashi A., Casais C., Ichimura K., Shirasu K. 2003. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in *Arabidopsis*. *PNAS.* 100 : 11 777—11 782.
- Takahashi A., Naito S., Komeda Y. 1992. Isolation and analysis of the expression of two genes for the 81-kilodalton heat shock proteins from *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 99 : 383—390.
- Travers S. A. A., Fares M. A. 2007. Functional coevolutionary networks of the Hsp70—Hop—Hsp90 system revealed through computational analyses. *Mol. Biol. Evol.* 24 : 1032—1044.
- Vittorioso P., Cowling R., Faure J.-D., Caboche M., Bellini C. 1998. Mutation in the *Arabidopsis PASTICCINO1* gene, which encodes a new FK506-binding protein-like protein, has a dramatic effect on plant development. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 3034—3043.
- Walther-Larsen H., Brandt J., Collinge D. B., Thordal-Christensen H. 1993. A pathogen-induced gene of barley encodes a HSP90 homologue showing striking similarity to vertebrate forms resident in the endoplasmic reticulum. *Plant Mol. Biol.* 21 : 1097—1108.
- Wandinger S. K., Richter K., Buchner J. 2008. The Hsp90 chaperone machinery. *J. Biol. Chem.* 283 : 18 473—18 477.
- Weikl T., Muschler P., Richter K., Veit T., Reinstein J., Buchner J. 2000. C-terminal regions of Hsp90 are important for trapping the nucleotide during the ATPase cycle. *J. Mol. Biol.* 303 : 583—592.
- Whitesell L., Mimnaugh E. G., De Costa B., Myers C. E., Neckers L. M. 1994. Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 : 8324—8328.
- Wiech H., Buchner J., Zimmermann R., Jakob U. 1992. Hsp90 chaperones protein folding *in vitro*. *Nature.* 358 : 169—170.
- Wilens R. W., Sacco M., Gusta L. V., Krishna P. 1995. Effects of 24-epibrassinolide on freezing and thermotolerance of bromegrass (*Bromus inermis*) cell cultures. *Physiol. Plant.* 95 : 195—202.
- Xu Y., Lindquist S. 1993. Heat-shock protein hsp90 governs the activity of pp60v-src kinase. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 7074—7078.
- Yabe N., Takahashi T., Komeda Y. 1994. Analysis of tissue-specific expression of *Arabidopsis thaliana* Hsp90-family gene HSP81. *Plant Cell Physiol.* 35 : 1207—1219.
- Yamada K., Fukao Y., Hayashi M., Fukazawa M., Suzuki I., Nishimura M. 2007. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 282 : 37 794—37 804.
- Yamada S., Ono T., Mizuno A., Nemoto T. K. 2003. A hydrophobic segment within the C-terminal domain is essential for both client-binding and dimer formation of the HSP90-family molecular chaperone. *Eur. J. Biochem.* 270 : 146—154.
- Yan J., Wang H., Liu Y., Shao C. 2008. Analysis of gene regulatory networks in the mammalian circadian rhythm. *PLoS Comput. Biol.* 4 : e1000193.
- Young J. C., Moarefi I., Hartl F. U. 2001. Hsp90: a specialized but essential protein-folding tool. *J. Cell Biol.* 154 : 267—273.
- Young J. C., Obermann W. M. J., Hartl F. U. 1998. Specific binding of tetratricopeptide repeat proteins to the C-terminal 12-kDa domain of hsp90. *J. Biol. Chem.* 273 : 18 007—18 010.
- Young J. C., Schneider C., Hartl F. U. 1997. *In vitro* evidence that hsp90 contains two independent chaperone sites. *FEBS Lett.* 418 : 139—143.
- Zhao R., Kakihara Y., Gribun A., Huen J., Yang G., Khanna M., Costanzo M., Brost R. L., Boone C., Hughes T. R., Yip C. M., Houry W. A. 2008. Molecular chaperone Hsp90 stabilizes Pih1/Nop17 to maintain R2TP complex activity that regulates snoRNA accumulation. *J. Cell Biol.* 180 : 563—578.
- Zou J., Guo Y., Guettouche T., Smith D. F., Voellmy R. 1998. Repression of heat shock transcription factor HSF1 activation by HSP90 (HSP90 complex) that forms a stress-sensitive complex with HSF1. *Cell.* 94 : 471—480.
- Zou J., Liu A., Chen X., Zhou X., Gao G., Wang W., Zhang X. 2009. Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment. *J. Plant Physiol.* 166 : 851—861.

HEAT SHOCK PROTEINS 90 kDa: DIVERSITY, STRUCTURE, FUNCTIONS

L. Ye. Kozeko

Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;
e-mail: kozeko@optima.com.ua

The review presents data on diversity, structure, functions and gene expression of the high conserved family of heat shock proteins 90 kDa (Hsp90). They are specialized molecular chaperones that fulfill the folding, maintenance of structural integrity and conformational regulation of a subset of proteins involved in important cellular processes, such as transduction of signals, cell cycle control etc. A composition and functioning of the Hsp90 chaperone machine are considered. Hsp90s play a significant role in growth and development of organisms carrying out conformational regulation of many regulatory proteins and protecting cells under stress. The review summarizes the results of investigations of different organisms, mainly animals and yeasts, with emphasis on the facts on Hsp90s in plants.

Key words: heat shock protein Hsp90, cell protection, conformational regulation, structure, chaperone.
