БИОХИМИЯ, 2019, том 84, вып. 11, с. 1564 – 1577

УДК 577.112.4

МАЛЫЕ БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Обзор

© 2019 Л.К. Муранова*, А.С. Рыжавская*, М.В. Судницына*, В.М. Шатов*, Н.Б. Гусев*,**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991 Москва, Россия; электронная почта: NBGusev@mail.ru

Поступила в редакцию 30.03.2019
После доработки 04.05.2019
Принята к публикации 27.06.2019

В обзоре представлены данные литературы и собственные экспериментальные результаты, касающиеся возможного участия малых белков теплового шока в развитии таких нейродегенеративных заболеваний, как болезни Шарко–Мари–Тута, Паркинсона, Альцгеймера и таупатии. Проанализировано влияние точечных мутаций, коррелирующих с развитием болезни Шарко–Мари–Тута, на стабильность, олигомерную структуру и шапероноподобную активность двух малых белков теплового шока HspB1 и HspB8. Показано, что точечные мутации влияют на равновесие между различными олигомерными формами HspB1, вследствие чего могут меняться шапероноподобная активность и взаимодействие с белками-партнерами, что приводит к нарушению цитоскелета и гибели нейронов. Мутации HspB8 влияют на его взаимодействие с адаптерным белком Bag3 и процесс аутофагии, что также может приводить к гибели нейронов. Представлены данные литературы о влиянии малых белков теплового шока на развитие амилоидозов различной природы. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что малые белки теплового шока взаимодействуют с мономерами (или малыми олигомерами) амилоидогенных белков, стабилизируют их структуру, предотвращают агрегацию и/или способствуют протеолитической деградации. Такой эффект оказывается возможным в силу того, что β-складки α-кристаллинового домена малых белков теплового шока взаимодействуют с β-складками белка-мишени и затрудняют его агрегацию. Помимо этого, малые белки теплового шока совместно с другими белками теплового шока могут способствовать разборке олигомеров, образованных амилоидогенными белками. Несмотря на существенные достижения, потребуются значительные дополнительные исследования для детального понимания роли малых белков теплового шока в защите от различных нейродегенеративных заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: малые белки теплового шока, шапероноподобная активность, аморфная агрегация, β-амилоиды, посттрансляционные модификации, нейродегенеративные заболевания.

DOI: 10.1134/S0320972519110046

Правильное сворачивание длинных полипептидных цепей, синтезированных *de novo*, и ренатурация белков, частично денатурированных под действием неблагоприятных условий, являются очень сложными процессами. В реализации этих процессов участвует несколько семейств так называемых белков теплового шока (heat shock proteins, Hsp), тесно взаимодействующих между собой и обеспечивающих гомеостаз (протеостаз) белков в клетке. В клетках человека представлены следующие семейства белков теплового шока: HspH (Hsp110), HspC (Hsp90), HspA (Hsp70), HspD/E (Hsp60/Hsp10), DNAJ (Hsp40) и HspB (small heat shock proteins, sHsp) (в старой номенклатуре цифра после обозначения Hsp соответствует молекулярной массе мономеров) [1, 2]. Для каждого из семейств белков теплового шока характерны свои особые свойства, функции и внутриклеточная локализация. Например, некоторые белки теплового шока (Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60) обладают АТРазной активностью, в то время как другие белки теплового шока (DNAJ) участвуют в регуляции АТРазной активности белков-партнеров (Hsp70) или вовсе не обладают АТРазной активностью (sHsp). Эффективное сворачивание полипептидных цепей становится возможным только при координированном участии всех (или большей части) семейств белков теплового

Принятые сокращения: Hsp (heat shock proteins) – белки теплового шока; sHsp (small heat shock proteins) – малые белки теплового шока.

* Автор является выпускником кафедры биохимии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

** Адресат для корреспонденции.

шока. Каждое семейство включает в свой состав несколько белков, кодируемых несколькими генами, иногда даже десятками генов. Так, например, в геноме человека обнаружено 10 генов, кодирующих малые белки теплового шока [3, 4]. Мономеры малых белков теплового шока человека содержат 150–250 а.о. и имеют малую молекулярную массу [5, 6]. Характерной чертой всех малых белков теплового шока является наличие высококонсервативного α-кристаллиного домена (alpha crystallin domain, ACD), состоящего из 80–100 а.о. и образованного несколькими (шестью-семью) β-складками (рис. 1, *а*) [7, 8]. Этот домен участвует в образовании димеров малых белков теплового шока, при этом в состав таких димеров могут входить как одинаковые, так и разные мономеры малых белков теплового шока [9–11]. В специальных условиях *in vitro* как изолированные кристаллиновые домены, так и интактные малые белки теплового шока могут образовывать β-амилоидные фибриллы [12, 13]. Любопытно, что короткие фрагменты кристаллинового домена, способные препятствовать агрегации частично денатурированных белков (т.е. проявляющие так называемую шаперонoподобную активность), склонны к образованию амилоидных фибрилл [14]. Помимо консервативного α-кристаллинового домена, малые белки теплового шока содержат в своем составе различные по длине и структуре *N*-концевой (NTD) и *C*-концевой (CTD) домены (рис. 1, *а*). Те малые белки теплового шока, которые имеют в составе своего *C*-концевого домена консервативный трипептид (I/V)X(I/V) (αA-кристаллин (HspB4), αB-кристаллин (HspB5), а также HspB1), склонны к образованию очень крупных олигомеров, содержащих более 20 мономеров. Это обусловлено тем, что указанный консервативный гидрофобный трипептид может взаимодействовать с гидрофобной канавкой, образованной β4–β8-складками кристаллинового домена, и тем самым обеспечивать формирование крупных олигомеров, собранных из нескольких димеров [15, 16]. Малые белки теплового шока отличаются по длине малоупорядоченного *N*-концевого домена (NTD), который, по всей видимости, играет важную роль в стабилизации структуры крупных олигомеров и во взаимодействии с белками-партнерами и белками-мишенями [11]. Зачастую этот домен содержит один или несколько участков фосфорилирования [5, 6]. Фосфорилирование этих участков может влиять на олигомерную структуру малых белков теплового шока [17, 18] и на взаимодействие малых белков теплового шока с белками-партнерами, например, с универсальным белком-адаптером 14-3-3 [19].

Как уже отмечалось выше, главная функция малых белков теплового шока состоит в поддержании белкового гомеостаза в клетке. Малые белки теплового шока могут осуществлять эту функцию разными способами: 1) sHsp способны связывать частично денатурированные или неправильно свернутые белки и препятствовать их агрегации [5, 6]. Образование такого комплекса не только предотвращает агрегацию неправильно свернутых белков, но и сохраняет их в состоянии, наиболее приемлемом для дальнейшего взаимодействия с ATP-зависимыми шаперонами, способными ренатурировать эти белки-субстраты [20]; 2) малые белки теплового шока могут способствовать удалению неправильно свернутых белков путем их деградации в протеасомах [6, 21] или аутофагосомах [22, 23]; 3) малые белки теплового шока совместно с белками Hsp110, Hsp70 и Hsp40 могут участвовать в дезагрегации (разборке) амилоидов [24]. Таким образом, малые белки теплового шока играют важную роль в защите клеток от накопления частично денатурированных или неправильно свернутых белков.

Несмотря на многоступенчатую защиту клетки от нарушений протеостаза, некоторые нейродегенеративные заболевания оказываются обусловленными повреждениями в системе правильного сворачивания белка. Это может быть связано либо с мутациями белков теплового шока, либо с накоплением чрезмерно большого количества неправильно свернутых белков, ренатурация или элиминация которых оказывается непосильной для системы контроля протеостаза.

В первой части обзора анализируются данные о влиянии мутаций малых белков теплового шока на развитие врожденной невропатии (болезни Шарко–Мари–Тута, Charcot–Marie–Tooth disease) или дистальной врожденной невропатии (distal hereditary motor neuropathy, dHMN). Во второй части обзора обобщаются данные о возможном участии малых белков теплового шока в защите клетки от накопления амилоидов различный природы.

МУТАЦИИ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА И БОЛЕЗНЬ ШАРКО–МАРИ–ТУТА II ТИПА

Врожденные невропатии являются широко распространенными гетерогенными заболеваниями. Эти невропатии классифицируют как болезнь Шарко–Мари–Тута, если в качестве симптомов преобладает повреждение сенсорных или моторных нейронов, и как дистальные

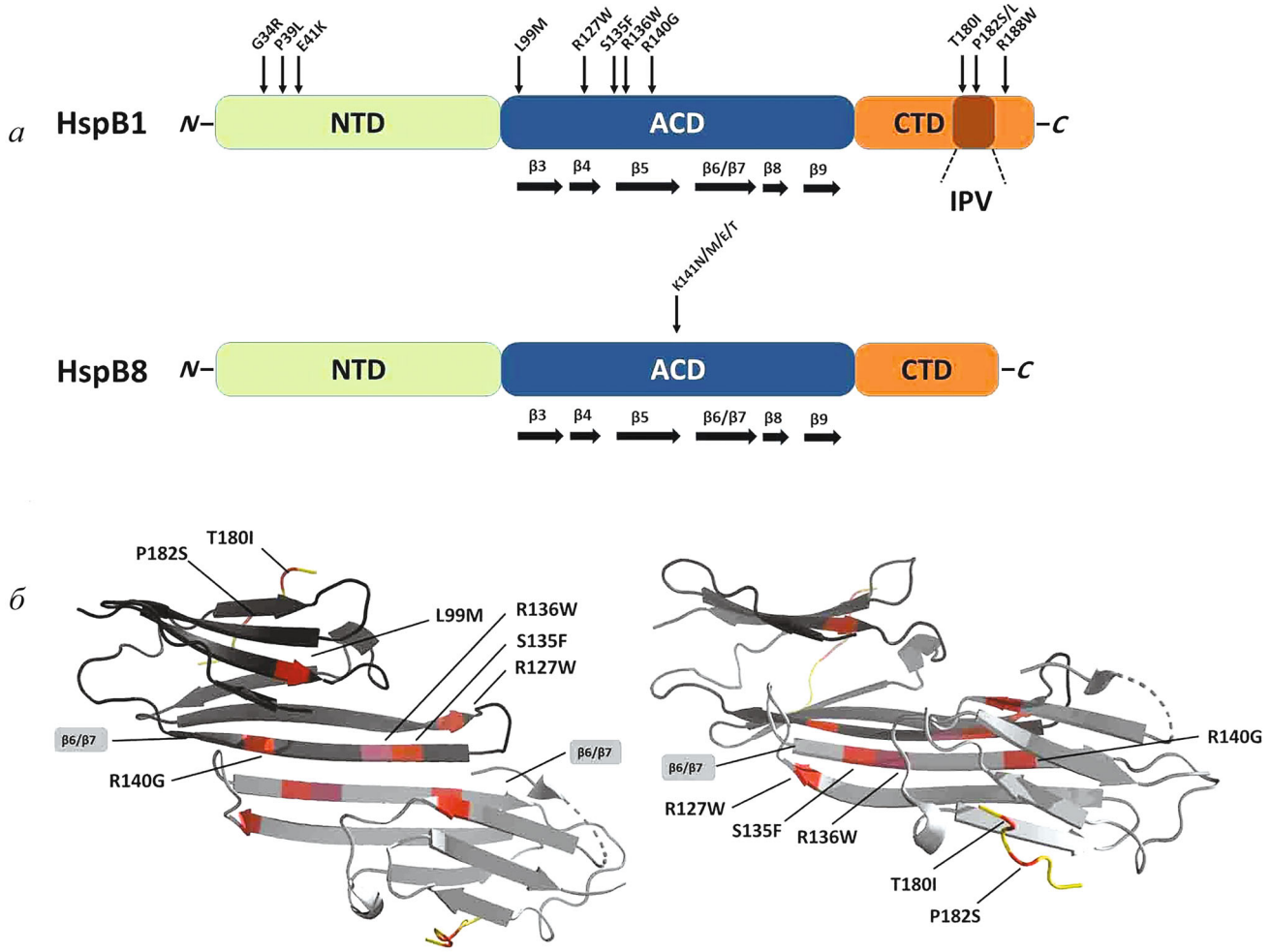

Рис. 1. *а* – Схема строения двух малых белков теплового шока HspB1 и HspB8. Зеленым цветом обозначен *N*-концевой домен (NTD), синим цветом – α-кристаллиновый домен (ACD) с указанием входящих в его состав β-складок, оранжевым цветом – *C*-концевой домен (CTD), в котором отмечен консервативный трипептид IPV. Стрелками показано положение точечных мутаций, сопряженных с развитием болезни Шарко–Мари–Тута; *б* – ленточная модель димера, образованного фрагментом HspB1, включающего в свой состав кристаллиновый и *C*-концевой домены. Указано положение β6/β7-складки, обеспечивающей формирование димеров. Левый рисунок – вид сверху, правый рисунок – вид сбоку. Димеры повернуты друг относительно друга на 90°. Рисунок выполнен в программе PyMol на основе PDB-файла 4MJH.
С цветным вариантом рис. 1 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/

моторные невропатии, – если преобладает повреждение моторных нейронов [25]. Таким образом, дистальные моторные невропатии можно рассматривать как частный случай болезни Шарко–Мари–Тута. Симптомы и причины возникновения болезни Шарко–Мари–Тута очень разнообразны, что затрудняет однозначную классификацию различных форм этого заболевания [26]. В простейшей классификации выделяют болезнь Шарко–Мари–Тута I типа, при которой повреждается миелиновая оболочка и уменьшается скорость проведения нервного сигнала, и болезнь Шарко–Мари–Тута II типа, при которой не наблюдается изменений в миелиновой оболочке и уменьшения скорости проведения сигнала, но происходит повреждение аксонов. На долю болезни Шарко–Мари–Тута II типа приходится ~40% пациентов, и среди них у ~10% больных выявляются мутации в генах трех малых белков теплового шока: HspB1, HspB3 и HspB8 [27]. В настоящее время описано более 30 мутаций в гене *HspB1*, одна мутация в гене *HspB3* и 9 мутаций в гене *HspB8* [28, 29]. Для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе возникновения патологий, желательно выяснить, к каким изменениям структуры и свойств белка приводят обнаруженные мутации.

В случае HspB1 оказалось, что мутации, связанные с болезнью Шарко–Мари–Тута, располагаются во всех трех доменах белка (рис. 1, *а*).

Три точечные мутации G34R, P39L и E41K, расположенные в высококонсервативной области *N*-концевого домена HspB1, приводят к увеличению размера олигомеров, образованных этим белком, и уменьшению их термостабильности [18]. Как и белок дикого типа, эти мутантные формы подвергаются фосфорилированию под действием MAPKAP киназы 2. Однако фосфорилирование белка дикого типа приводит к эффективной диссоциации крупных олигомеров, в то время как фосфорилирование мутантных форм лишь незначительно сказывается на изменении четвертичной структуры белка [18]. В литературе утвердилось мнение, что индуцированная фосфорилированием диссоциация крупных олигомеров HspB1 играет важную роль в шапероноподобной активности HspB1 [30], поэтому мутации в *N*-концевом домене могут нарушать зависящую от фосфорилирования регуляцию шаперонной активности HspB1.

Наибольшее количество мутаций HspB1, связанных с болезнью Шарко–Мари–Тута, расположены в α-кристаллиновом домене (рис. 1, *а*). Этот домен (и особенно его β6/β7-складка) участвует в формировании межсубъединичных контактов в составе крупных олигомеров малых белков теплового шока (рис. 1, *б*) [31], поэтому можно предположить, что мутации в этом домене будут приводить к изменению четвертичной структуры HspB1. Действительно, оказалось, что точечные мутации L99M, R127W, S135F и R140G сопровождаются дестабилизацией четвертичной структуры, приводящей при низкой концентрации белка к частичной диссоциации крупных олигомеров HspB1 [32–34]. Наоборот, при высокой концентрации белка эти мутантные формы склонны образовывать олигомеры, размеры которых существенно превосходят размеры олигомеров HspB1 дикого типа. Этот эффект может быть обусловлен тем, что при неправильной упаковке мономеров мутантных форм на поверхности олигомера оказываются экспонированными «липкие» участки, что приводит к повышенной склонности к ассоциации. Следует заметить, что из-за общей дестабилизации структуры фосфорилирование HspB1 с точечными мутациями L99M, R127W и S135F даже при низких степенях фосфорилирования приводит к диссоциации крупных олигомеров, что нехарактерно для белка дикого типа [32, 34]. Точечная мутация R136W сопровождается образованием очень стабильных олигомеров, размер которых существенно превышает размер олигомеров белка дикого типа. Это может быть связано с общим изменением упаковки мономеров в составе олигомера и образованием гидрофобных контактов между F138 одного мономера и возникшим вследствие мутации W136 соседнего мономера. Все анализируемые мутантные формы HspB1 отличаются от белка дикого типа по своей способности взаимодействовать с другим малым белком теплового шока, HspB6, и, как правило, обладают пониженной шапероноподобной активностью по сравнению с белком дикого типа при использовании большинства модельных белков-субстратов за исключением инсулина [32–34]. Таким образом, мутации в α-кристаллиновом домене сопровождаются существенными изменениями в четвертичной структуре, нарушениями в регуляции четвертичной структуры под действием фосфорилирования, а также изменением взаимодействия как с белками-партнерами, так и с белками-субстратами.

Мутации в *C*-концевом домене HspB1 также могут быть связаны с болезнью Шарко–Мари–Тута [29]. Точечные мутации T180I, P182S/L и R188W располагаются в непосредственной близости от консервативного пептида IPV, ограниченного 181 и 183 а.о. Как уже отмечалось, этот пептид, расположенный в высокоподвижном *C*-концевом домене, может взаимодействовать с кристаллиновым доменом соседнего мономера и таким образом стабилизировать структуру крупных олигомеров HspB1 [15]. Действительно, оказалось, что точечная мутация P182S приводит к понижению термостабильности и образованию крупных полидисперсных агрегатов HspB1 [35]. Точечная мутация R188W также сопровождалась некоторым увеличением размеров олигомеров HspB1, хотя не оказывала заметного влияния на термостабильность белка. Оказалось, что точечные мутации P182S и R188W приводят к существенному уменьшению шапероноподобной активности HspB1, измеренной *in vitro* [35]. Это может быть обусловлено тем, что *C*-концевой домен играет важную роль во взаимодействии малых белков теплового шока с белками-субстратами [36].

Итак, можно заключить, что каждая из точечных мутаций сопровождается различными изменениями в свойствах HspB1 (рис. 2). Тем не менее, несмотря на огромное разнообразие, точечные мутации, связанные с болезнью Шарко–Мари–Тута, приводят к изменению одного или нескольких важных свойств HspB1: 1) изменению олигомерного состояния или стабильности олигомеров, образуемых HspB1; 2) нарушению регуляции олигомерного состояния, контролируемой фосфорилированием; 3) изменению взаимодействия HspB1 с белками-партнерами и белками-субстратами, что, как правило, сопровождается уменьшением шапероноподобной активности. Вероятно, ключевым мо-

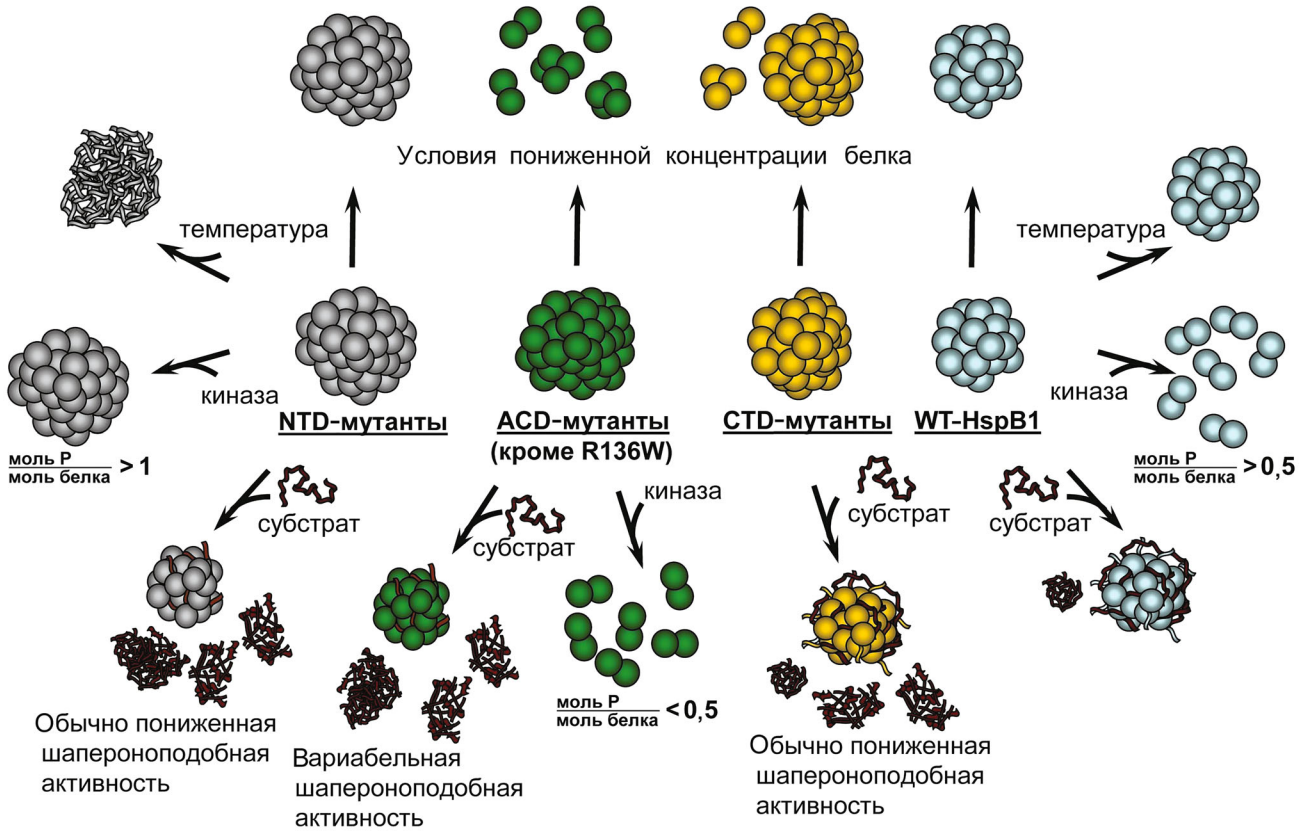

Рис. 2. Схематическое изображение изменений в структуре и свойствах мутантных форм HspB1, связанных с болезнью Шарко–Мари–Тута. HspB1 дикого типа (WT-HspB1) образует устойчивые к диссоциации крупные олигомерные комплексы, обладает высокой устойчивостью к нагреванию и высокой шапероноподобной активностью. Крупные олигомеры HspB1 дикого типа диссоциируют на малые олигомеры после включения > 0,5 моль фосфора на моль белка. Мутантные формы с точечными заменами в *N*-концевом домене (NTD-мутанты) образуют устойчивые к диссоциации крупные олигомеры, обладающие низкой термической устойчивостью и, как правило, пониженной шапероноподобной активностью. Олигомеры этих белков не диссоциируют после включения > 1 моль фосфора на моль белка. Мутантные формы с точечными заменами в кристаллиновом домене (ACD-мутанты) образуют крупные олигомеры, склонные к диссоциации при низкой концентрации белка; они, как правило, обладают пониженной шапероноподобной активностью и, за исключением мутантой формы R136W, диссоциируют на малые олигомеры после включения < 0,5 моль фосфора на моль белка. Точечные мутантные формы с заменами в *C*-концевом домене (CTD-мутанты) образуют крупные олигомеры, склонные к диссоциации при низкой концентрации белка и, как правило, обладающие пониженной шапероноподобной активностью.
С цветным вариантом рис. 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/

ментом во всех этих процессах является нарушение сборки олигомерных комплексов, потому что считается, что обратимая ассоциация/диссоциация субъединиц – необходимое условие нормального функционирования HspB1 [37].

Очень важным представляется ответ на вопрос о том, какие процессы оказываются нарушенными вследствие мутаций HspB1. Как уже отмечалось выше, мутации HspB1 ассоциированы с аксональной формой болезни Шарко–Мари–Тута, при которой оказываются поврежденными длинные аксоны нейронов [27]. Поэтому можно предположить, что именно повреждение аксонов является одной из главных причин развития болезни Шарко–Мари–Тута, вызванной мутациями HspB1 [38, 39]. Микротрубочки и промежуточные филаменты (нейрофиламенты) являются основными компонентами, участвующими в формировании цитоскелета нейронов. При этом оказалось, что HspB1 напрямую или опосредованно влияет на поддержание цитоскелета, образованного с участием микротрубочек и нейрофиламентов. Было установлено, что HspB1 способен взаимодействовать с тубулином и таким образом увеличивать стабильность микротрубочек [40]. Считается, что мутации в кристаллиновом домене повышают сродство HspB1 к тубулину, что способствует стабилизации микротрубочек [41, 42]. В нормальном состоянии микротрубочки являются высокодинамичными

структурами, подвергающимися постоянным процессам полимеризации и деполимеризации [43]. Борясь с недопустимо высокой стабильностью микротрубочек, вызванной связыванием мутантных форм HspB1 с тубулином, клетка повышает активность гистондеацетилаз (histone deacetylase 6, HDAC6), которые деацетилируют тубулин, приводя к разборке микротрубочек и повреждению цитоскелета аксона [43]. В этой связи стоит отметить, что разработанные в последние годы избирательные ингибиторы гистондеацетилаз рассматриваются в качестве лекарств, используемых при терапии болезни Шарко–Мари–Тута II типа [44].

Вторым важным компонентом цитоскелета, на который может влиять HspB1, являются промежуточные филаменты (нейрофиламенты). Установлено, что мутации S135F и P182L в HspB1 сопровождаются повреждением сети нейрофиламентов и могут приводить к гибели клеток [45, 46]. Точечные мутации R127W, S135F и P182L коррелируют с увеличением фосфорилирования нейрофиламентов, катализируемого протеинкиназой cdk5, что также приводит к повреждению цитоскелета [47].

Результаты опытов, проведенных на трансгенных мышах, экспрессирующих точечные мутантные формы HspB1 человека (S135F, R136W), в целом согласуются с результатами, полученными на клеточном уровне. У трансгенных животных были выявлены симптомы, характерные для болезни Шарко–Мари–Тута, такие как изменения локомоции, повреждения аксонов, повышенный уровень фосфорилирования нейрофиламентов и пониженный уровень ацетилирования тубулина [48, 49]. Однако все эти симптомы были выражены не столь ярко, как в случае болезни Шарко–Мари–Тута. Нет сомнения, что потребуются дополнительные усилия как со стороны врачей, так и со стороны ученых, работающих в области фундаментальной науки, для полного понимания механизмов, лежащих в основе развития болезни Шарко–Мари–Тута, вызванной мутациями HspB1.

HspB8 (Hsp22) является другим малым белком теплового шока, мутации которого коррелируют с развитием болезни Шарко–Мари–Тута [29]. Как и в случае HspB1, мутации могут находиться как в *N*-концевом, так и в α-кристаллиновом или *C*-концевом доменах белка. Однако наиболее «горячей» точкой является остаток Lys141, который может быть заменен на остатки аспарагина, метионина, глутаминовой кислоты или треонина. Этот остаток гомологичен Arg140 HspB1, Arg116 HspB4 и Arg120 HspB5, располагается в области межсубъединичных контактов двух мономеров малых белков теплового шока и обеспечивает стабилизацию этих контактов за счет образования солевого мостика с отрицательно заряженным остатком соседнего мономера [31]. HspB8, в отличие от HspB1, образует только малые олигомеры, по всей видимости, находящиеся в равновесии с мономерами [50, 51]. Вероятно, именно поэтому точечная мутация K141E не оказывает существенного влияния на четвертичную структуру белка, однако сопровождается дестабилизацией его структуры, что отражается в повышенной скорости ограниченного протеолиза [52]. В зависимости от природы модельного субстрата, точечный мутант K141E HspB8 обладает такой же или существенно пониженной шаперонoподобной активностью по сравнению с белком дикого типа [52]. По некоторым данным, точечная мутация K141 приводит к ослаблению взаимодействия HspB8 с адаптерным белком Bag3 [53, 54]. По другим данным, полученным на клеточном уровне, мутация K141, напротив, сопровождается усилением взаимодействия HspB8 с Bag3 [28]. Bag3 совместно с HspB8, белком Hsc70 и связанной с шаперонами убиквитин-лигазой CHIP образует гетероолигомерный комплекс, обеспечивающий убиквитирование денатурированных белков и их последующую деградацию в аутофагосомах [23, 29]. Индуцированное мутациями изменение взаимодействия HspB8 с Bag3 может нарушать процесс протеолитической деградации денатурированных белков и таким образом приводить к развитию различных нейродегенеративных заболеваний. В последнее время появились данные о том, что некоторые мутации HspB1 также могут препятствовать нормальному процессу аутофагии, оказывая влияние на формирование фагофор [55].

Таким образом, мутации малых белков теплового шока могут быть причиной развития аксональной формы болезни Шарко–Мари–Тута. В случае HspB1 мутации, как правило, сопровождаются изменением равновесия между различными олигомерными формами, следствием чего является нарушение взаимодействия с белками-партнерами и белками-мишенями, в частности с белками, участвующими в формировании цитоскелета (рис. 3). Повреждение цитоскелета может приводить к гибели нейронов. В случае HspB8 мутации сопровождаются изменением взаимодействия с адаптерным белком Bag3, что в конечном итоге нарушает процессы шаперон-зависимого убиквитирования и аутофагии и приводит к накоплению в клетках денатурированных белков, следствием чего также становится гибель клетки (рис. 3). Таким образом, мутации малых белков теплового шока могут быть причиной нарушения протеостаза.

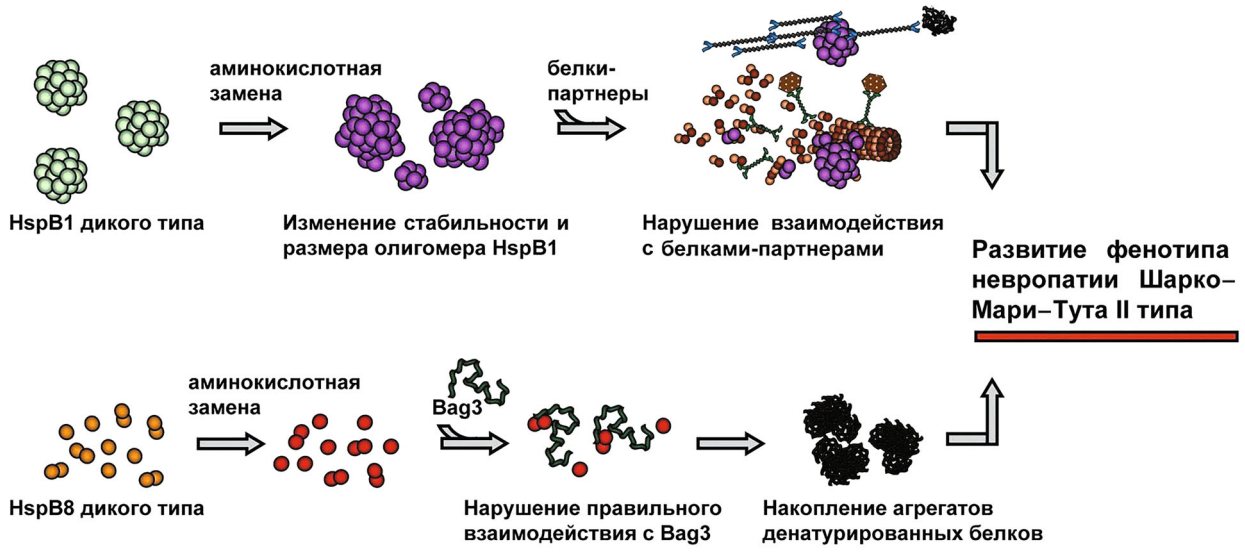

Рис. 3. Возможные механизмы влияния точечных мутаций малых белков теплового шока на развитие болезни Шарко–Мари–Тута. Точечные мутации HspB1 зачастую сопровождаются изменением стабильности олигомеров или регуляции олигомерного состояния, вследствие чего нарушается взаимодействие с белками-мишенями или белками-партнерами, что приводит к повреждению цитоскелета и/или иным нарушениям. Точечные мутации HspB8 нарушают его взаимодействие с адаптерным белком Bag3, влияют на процессы аутофагии и приводят к накоплению агрегатов денатурированных белков.
С цветным вариантом рис. 3 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/

Рассмотрим, каким образом малые белки теплового шока участвуют в предотвращении накопления агрегатов или амилоидных фибрилл, образуемых денатурированными белками или белками, склонными к амилоидозу.

УЧАСТИЕ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В ПРОЦЕССАХ АМИЛОИДОЗА

Многие белки содержат в своей структуре протяженные участки, склонные к образованию β-структур. Кроме того, точечные мутации могут приводить к повышению вероятности образования β-складчатых структур в тех участках полипептидной цепи, где ранее располагались α-спирали или участки неупорядоченной структуры. Если такие, склонные к образованию β-структур, участки оказываются в непосредственной близости друг от друга и в высокой концентрации, то за счет латеральной агрегации эти участки взаимодействуют между собой, сначала образуя префибриллы, которые при дальнейшем росте формируют фибриллы, склонные к дальнейшей агрегации и формированию телец включения. Среди белков, способных образовывать амилоиды, можно упомянуть α-синуклеин, амилоидный пептид Aβ1–40, прионы, тау-белок и многие другие.

Литература, касающаяся влияния малых белков теплового шока на агрегацию синуклеина, очень обширна. Считается, что синуклеин, сравнительно короткий белок, содержащий 140 а.о., относится к группе внутренне разупорядоченных белков (intrinsically disordered proteins). При взаимодействии с мембраной или при образовании тетрамеров значительная часть структуры синуклеина формирует упорядоченные α-спиральные участки. Синуклеин может находиться в состоянии неупорядоченного мономера или в состоянии неправильно свернутого мономера, склонного к агрегации [56]. Вероятность перехода в состояние неправильно свернутого мономера возрастает при различных стрессорных воздействиях и в случае точечных мутаций A53T, A30P и E46K синуклеина [57]. Дестабилизированные неправильно упакованные мономеры образуют β-амилоидные префибриллы, которые позднее формируют фибриллы и превращаются в тельца Леви, обнаруживаемые в нейронах пациентов с болезнью Паркинсона [57].

Образование агрегатов синуклеина (телец Леви) зачастую сопровождается повышением уровня экспрессии HspB1 и HspB5 [58]. Подробное исследование влияния малых белков теплового шока на агрегацию синуклеина привело к заключению, что HspB1 и HspB5 не способны

образовывать прочные комплексы с мономерами синуклеина, но, по всей видимости, обеспечивают стабилизацию структуры мономера и препятствуют переходу мономера синуклеина в форму, склонную к олигомеризации. Такая активность характерна как для интактных малых белков теплового шока, так и для их изолированного α-кристаллинового домена [59]. Помимо этого, HspB1 и HspB5 могут связываться с малыми агрегатами синуклеина и даже с амилоидными фибриллами, предотвращая их диссоциацию и индуцированную таким образом вторичную нуклеацию [60]. Дальнейшие эксперименты показали, что HspB1 может располагаться на поверхности фибрилл синуклеина, уменьшая их гидрофобность и предотвращая их агрегацию и элонгацию [61].

Следует отметить, что изолированный кристаллиновый домен эффективно стабилизирует структуру мономерного синуклеина, однако не способен связываться с фибриллами синуклеина и предотвращать их агрегацию и элонгацию [61]. Высказывается предположение, что участки, обеспечивающие предотвращение аморфной агрегации модельных субстратов и ингибирующие формирование амилоидов, располагаются в разных частях молекулы малых белков теплового шока. Участки, предотвращающие аморфную агрегацию лизоцима, располагаются в *N*-концевом домене малых белков теплового шока, а участки, предотвращающие агрегацию амилоидного пептида Aβ1–40, – в центральном кристаллиновом домене [62]. Такое взаимодействие становится возможным потому, что кристаллиновый домен содержит шесть или семь тесно упакованных между собой β-складок, которые, по всей видимости, способны взаимодействовать с β-складками белков-мишеней. В этой связи следует отметить, что в определенных условиях *in vitro* кристаллин способен образовывать β-амилоиды, которые при этом оказываются функционально активными и обладают шапероноподобной активностью, сопоставимой с таковой у интактного белка [12, 13]. Более того, недавно опубликованные данные свидетельствуют о том, что при катаракте в глазу накапливаются β-амилоидные структуры [63].

Как следует из представленных данных, доминирующим является заключение, что малые белки теплового шока (в первую очередь HspB1 и HspB5) тем или иным способом (стабилизируя мономеры синуклеина и/или предотвращая сборку фибрилл) препятствуют агрегации синуклеина. Тем не менее, оказалось, что сверхэкспрессия HspB5 в клетках глиобластомы человека может способствовать накоплению агрегатов синуклеина в астроцитах [64]. Этот неожиданный эффект может быть связан с тем, что при сверхэкспрессии HspB5 начинает конкурировать с HspB8 за взаимодействие с Bag3 и таким образом ингибирует нормальный процесс аутофагии.

Помимо синуклеина малые белки теплового шока (HspB1, HspB5, HspB6, HspB8) могут связываться с Aβ-амилоидными пептидами. Установлено, что различные малые белки теплового шока накапливаются в сенильных бляшках (senile plaque), обнаруживаемых в клетках пациентов с болезнью Альцгеймера и образованных преимущественно фибриллами, сформированными амилоидными пептидами [65, 66]. При этом малые белки теплового шока (HspB1, HspB5, HspB6, HspB8), находящиеся в этих агрегатах, могут быть ковалентно «сшиты» с амилоидным пептидом под действием трансглутаминазы [65]. Малые белки теплового шока не только локализуются вместе с агрегатами, образованными амилоидными пептидами, но также способны препятствовать их агрегации [67–69]. Высказывается предположение, что в зависимости от природы амилоидного пептида (Aβ1–42 или D-Aβ1–40) малые белки теплового шока могут влиять на взаимодействие мономеров (или малых олигомеров пептида) с внешней мембраной клетки, а HspB5 способен предотвращать переход протофибрилл в зрелые фибриллы [69]. Добавление амилоидного пептида к культуре кортикальных астроцитов крысы сопровождалось выходом HspB1 и связыванием добавленного пептида [68]. Установлено, что HspB6 способен защищать клетки нейробластомы SH-SY5Y от последствий накопления Aβ-амилоидного пептида [70]. При этом HspB6 связывается именно с тем участком пептида, который участвует в полимеризации и агрегации. Фосфорилирование HspB6 усиливает его взаимодействие с низкомолекулярными формами амилоидного пептида и повышает эффективность в предотвращении амилоидоза. Оказалось, что даже короткий 25-членный *N*-концевой пептид HspB6, содержащий в своем составе фосфорилируемый остаток серина, может быть использован для предотвращения агрегации фибрилл, образованных амилоидным пептидом [70].

Еще одним белком, склонным к агрегации и образующим нейрофибриллярные пучки (neurofibrillary tangles), обнаруживаемые в клетках пациентов с болезнью Альцгеймера, является тау-белок. Это небольшой многофункциональный внутренне разупорядоченный белок, основной функцией которого долгое время считалась стабилизация микротрубочек [71]. Тау-белок может подвергаться гиперфосфорилирова-

нию под действием многочисленных и разнообразных протеинкиназ, что сопровождается ослаблением его взаимодействия с тубулином и увеличением вероятности агрегации с образованием включений разного типа и развитием так называемых таупатий [72, 73].

Оказалось, что HspB1 лучше связывается с гиперфосфорилированным тау-белком и таким образом уменьшает количество склонного к агрегации тау-белка. Помимо этого, HspB1 увеличивает скорость дефосфорилирования парных спиральных филаментов (paired helical filaments), образованных гиперфосфорилированным тау-белком [74]. Высказывается предположение, что HspB1 каким-то образом узнает участки фосфорилирования в структуре тау-белка и тем самым предотвращает агрегацию и способствует его протеолитической деградации [75]. Экспериментальные данные свидетельствуют в пользу того, что гиперфосфорилирование приводит к дальнейшей дестабилизации структуры тау-белка. Такой сильно дестабилизированный белок склонен к агрегации, и HspB1 блокирует или тормозит этот процесс. Параллельно с этим дестабилизированный тау-белок может подвергаться ренатурации или протеолитической деградации, и HspB1 тем или иным образом способствует обоим этим процессам [76]. В работе, выполненной на склонном к агрегации и образованию фибрилл пептиде, содержащем 244–369 а.о. тау-белка, было показано, что HspB1 со сравнительно низким сродством кратковременно связывается с таким пептидом и при этом замедляет процесс образования фибрилл [77]. Высказывается предположение, что VQI-трипептиды, дважды повторяющиеся в структуре пептида тау-белка, ограниченного остатками 244–369, взаимодействуют с гидрофобной канавкой, образованной β4–β8-складками кристаллинового домена HspB1, т.е. взаимодействуют с теми участками, которые при отсутствии субстрата заняты (I/V)X(I/V)-пептидом, расположенным в *C*-концевом домене HspB1 [77, 78].

Помимо прямого воздействия на процессы агрегации тау-белка, малые белки теплового шока могут оказывать опосредованное влияние на эти процессы. Например, данные литературы свидетельствуют о том, что универсальный адаптерный белок 14-3-3 способен непрочно взаимодействовать с нефосфорилированным тау-белком и значительно прочнее – с несколькими участками фосфорилированного тау-белка [79–82]. В зависимости от условий и места связывания на тау-белке белок 14-3-3 может способствовать фосфорилированию и провоцировать агрегацию и/или стабилизировать агрегаты тау-белка и тем самым предотвращать их разборку и появление особенно опасных малых олигомеров, являющихся новыми центрами олигомеризации [83]. Фосфорилированный HspB6 образует прочные комплексы с белком 14-3-3 [84] и поэтому может эффективно конкурировать с фосфорилированным тау-белком за связывание с белком 14-3-3. Таким образом, фосфорилированный HspB6 может опосредованно влиять на возможное участие белка 14-3-3 в регуляции агрегации тау-белка.

Экспериментальные данные, касающиеся влияния малых белков теплового шока на агрегацию прионов, достаточно противоречивы. При введении в мозг хомяков приона, вызывающего скрепи (скрепи агент 263), наблюдалось существенное увеличение синтеза HspB5, однако не было выявлено совместной локализации HspB5 и агрегатов, образованных прионом PrP^{Sc}. Уровень HspB5 в головном мозге существенно увеличивается при различных прионных заболеваниях, однако высказывается сомнение, что такое повышение каким-то образом влияет на патогенез прионных инфекций [85]. Одновременно с этим было установлено, что малые белки теплового шока дрожжей Hsp26 и Hsp42 препятствуют прионогенезу прионного белка Sup35 дрожжей. При этом Hsp42 ингибирует рост фибрилл с концов, а Hsp26 тормозит самосборку прионных фибрилл. Кроме того, малые белки теплового шока дрожжей совместно с Hsp40, Hsp70 и Hsp104 дестабилизируют прионные фибриллы и способствуют их разборке [86].

Таким образом, можно заключить, что малые белки теплового шока взаимодействуют преимущественно с мономерами (или малыми олигомерами) внутренне разупорядоченных белков, склонных к образованию амилоидов. Взаимодействуя с такими белками, малые белки теплового шока стабилизируют их структуру, предотвращают агрегацию этих белков и/или способствуют их протеолитической деградации (рис. 4). По всей видимости, такого рода взаимодействие осуществляется за счет склонных к образованию амилоидогенных образований – β4–β8-складок α-кристаллинового домена малых белков теплового шока [62]. В ходе такого взаимодействия образуются смешанные структуры, в которых β-складки малых белков теплового шока взаимодействуют с β-складками мономеров амилоидогенных белков. В пользу сходства структур, образуемых амилоидогенными белками и малыми белками теплового шока, свидетельствует тот факт, что как малые белки теплового шока (HspB5), так и амилоиды, образованные тау-белком, способны взаимодействовать с никотиновым ацетилхолиновым рецептором α7, индуцировать передачу сигнала через

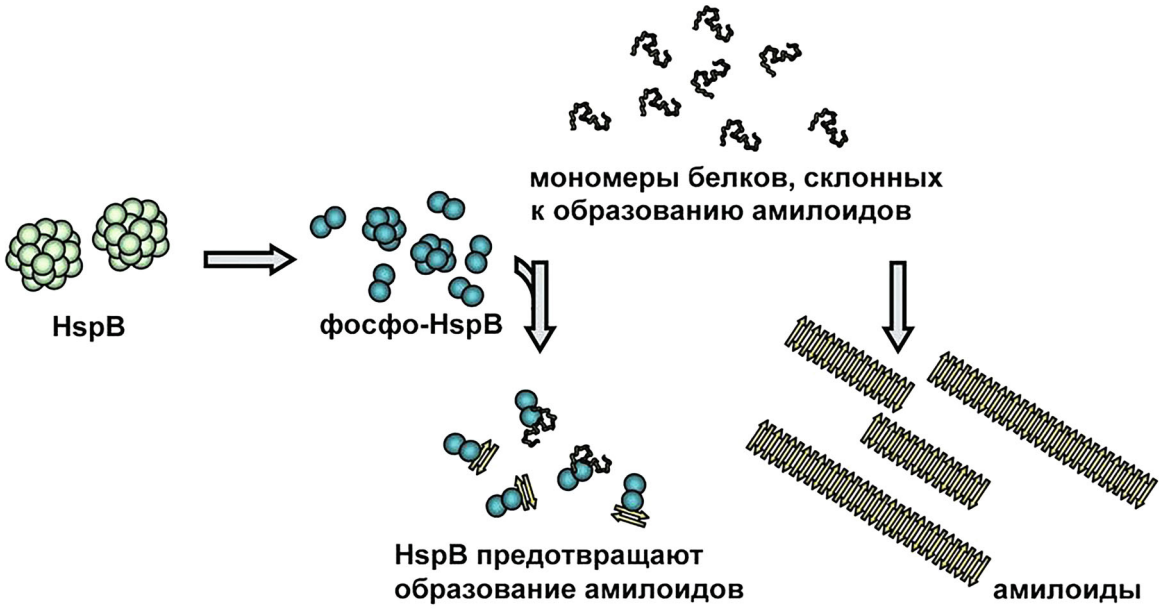

Рис. 4. Малые олигомеры, образующиеся после фосфорилирования малых белков теплового шока (HspB), могут с использованием разных участков предотвращать аморфную агрегацию частично денатурированных белков и накопление амилоидных фибрилл посредством связывания мономеров или малых олигомеров амилоидогенных белков.
С цветным вариантом рис. 4 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/

белок Stat3, активировать аутофагию и подавлять секрецию воспалительных интерлейкинов [87, 88]. Высказывается предположение, что в том случае, когда малые белки теплового шока представлены крупными олигомерами, β4–β8-складка, ответственная за взаимодействие с амилоидогенными белками, занята консервативным (I/V)X(I/V)-трипептидом, расположенным в *C*-концевом домене малых белков теплового шока. Вследствие этого крупные олигомеры малых белков теплового шока малоэффективны во взаимодействии с амилоидогенными белками. В ходе стресса и зачастую связанного с ним фосфорилирования крупные олигомеры малых белков теплового шока диссоциируют на мелкие олигомеры, гидрофобная β4–β8-складка становится доступной для взаимодействия с амилоидогенными белками, и после этого малые белки теплового шока оказываются способными эффективно предотвращать агрегацию белков-субстратов [89].

Малые белки теплового шока являются одним из важных компонентов сложной системы шаперонов, которая контролирует правильное сворачивание белка и предотвращает накопление частично денатурированных белков в клетке. Значительная часть малых белков теплового шока склонна к образованию лабильных олигомеров, находящихся в равновесии с малыми олигомерами. Точечные мутации, нарушающие равновесие между различными олигомерными формами HspB1, могут оказывать влияние на стабильность, шапероноподобную активность и способность взаимодействовать с белками-партнерами. Точечные мутации HspB8 могут влиять на его взаимодействие с адаптерным белком Bag3 и регуляцию процессов аутофагии, обеспечивающих избирательный протеолиз неправильно свернутых белков. Вследствие этого мутации малых белков теплового шока могут приводить к развитию такого нейродегенеративного заболевания, как болезнь Шарко–Мари–Тута. β-Складки α-кристаллинового домена в определенных условиях способны узнавать β-складки амилоидогенных белков-субстратов, взаимодействовать с ними и таким образом стабилизировать их структуру, предотвращать агрегацию и/или способствовать протеолитической деградации неправильно свернутых белков. Вследствие этого малые белки теплового шока могут предотвращать или замедлять развитие таких нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, различные виды таупатий и прионные болезни.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00038).

Благодарности. Все авторы этой работы являются выпускниками кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Наша работа была бы невозможной, если бы она не опиралась на знания и навыки, полученные во время обучения на нашей кафедре, на традиции, заложенные основателем кафедры биохимии академиком С.Е. Севериным. В год восьмидесятилетия мы хотим пожелать кафедре биохимии больших успехов и выразить надежду, что и в будущем, несмотря на возникающие проблемы и трудности, наша кафедра будет продолжать готовить заинтересованных и грамотных специалистов-биохимиков.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vos, M.J., Hageman, J., Carra, S., and Kampinga, H.H. (2008) Structural and functional diversities between members of the human HSPB, HSPH, HSPA, and DNAJ chaperone families, *Biochemistry*, **47**, 7001–7011, doi: 10.1021/bi800639z.
2. Vilasi, S., Bulone, D., Caruso Bavisotto, C., Campanella, C., Marino Gammazza, A., San Biagio, P.L., Cappello, F., Conway de Macario, E., and Macario, A.J.L. (2017) Chaperonin of group I: oligomeric spectrum and biochemical and biological implications, *Front. Mol. Biosci.*, **4**, 99, doi: 10.3389/fmolb.2017.00099.
3. Fontaine, J.M., Rest, J.S., Welsh, M.J., and Benndorf, R. (2003) The sperm outer dense fiber protein is the 10th member of the superfamily of mammalian small stress proteins, *Cell Stress Chaperones*, **8**, 62–69, doi: 10.1379/1466-1268(2003)8<62:tsodfp>2.0.co;2.
4. Kappe, G., Franck, E., Verschuure, P., Boelens, W.C., Leunissen, J.A., and de Jong, W.W. (2003) The human genome encodes 10 α-crystallin-related small heat shock proteins: HspB1-10, *Cell Stress Chaperones*, **8**, 53–61, doi: 10.1379/1466-1268(2003)8<53:thgecs>2.0.co;2.
5. Mymrikov, E.V., Seit-Nebi, A.S., and Gusev, N.B. (2011) Large potentials of small heat shock proteins, *Physiol. Rev.*, **91**, 1123–1159, doi: 10.1152/physrev.00023.2010.
6. Bakthisaran, R., Tangirala, R., and Rao, C.M. (2015) Small heat shock proteins: role in cellular functions and pathology, *Biochim. Biophys. Acta*, **1854**, 291–319, doi: 10.1016/j.bbapap.2014.12.019.
7. Bagneris, C., Bateman, O.A., Naylor, C.E., Cronin, N., Boelens, W.C., Keep, N.H., and Slingsby, C. (2009) Crystal structures of α-crystallin domain dimers of αB-crystallin and Hsp20, *J. Mol. Biol.*, **392**, 1242–1252, doi: 10.1016/j.jmb.2009.07.069.
8. Baranova, E.V., Weeks, S.D., Beelen, S., Bukach, O.V., Gusev, N.B., and Strelkov, S.V. (2011) Three-dimensional structure of α-crystallin domain dimers of human small heat shock proteins HSPB1 and HSPB6, *J. Mol. Biol.*, **411**, 110–122, doi: 10.1016/j.jmb.2011.05.024.
9. Mymrikov, E.V., Seit-Nebi, A.S., and Gusev, N.B. (2012) Heterooligomeric complexes of human small heat shock proteins, *Cell Stress Chaperones*, **17**, 157–169, doi: 10.1007/s12192-011-0296-0.
10. Delbecq, S.P., Rosenbaum, J.C., and Klevit, R.E. (2015) A mechanism of subunit recruitment in human small heat shock protein oligomers, *Biochemistry*, **54**, 4276–4284, doi: 10.1021/acs.biochem.5b00490.
11. Heirbaut, M., Lermyte, F., Martin, E.M., Beelen, S., Sobott, F., Strelkov, S.V., and Weeks, S.D. (2017) Specific sequences in the *N*-terminal domain of human small heat-shock protein HSPB6 dictate preferential hetero-oligomerization with the orthologue HSPB1, *J. Biol. Chem.*, **292**, 9944–9957, doi: 10.1074/jbc.M116.773515.
12. Carver, J.A., Ecroyd, H., Truscott, R.J.W., Thorn, D.C., and Holt, C. (2018) Proteostasis and the regulation of intra- and extracellular protein aggregation by ATP-independent molecular chaperones: lens α-crystallins and milk caseins, *Acc. Chem. Res.*, **51**, 745–752, doi: 10.1021/acs.accounts.7b00250.
13. Garvey, M., Ecroyd, H., Ray, N.J., Gerrard, J.A., and Carver, J.A. (2017) Functional amyloid protection in the eye lens: retention of α-crystallin molecular chaperone activity after modification into amyloid fibrils, *Biomolecules*, **7**, E67, doi: 10.3390/biom7030067.
14. Tanaka, N., Tanaka, R., Tokuhara, M., Kunugi, S., Lee, Y.F., and Hamada, D. (2008) Amyloid fibril formation and chaperone-like activity of peptides from αA-crystallin, *Biochemistry*, **47**, 2961–2967, doi: 10.1021/bi701823g.
15. Delbecq, S.P., Jehle, S., and Klevit, R. (2012) Binding determinants of the small heat shock protein, αB-crystallin: recognition of the 'IxI' motif, *EMBO J.*, **31**, 4587–4594, doi: 10.1038/emboj.2012.318.
16. Hochberg, G.K., and Benesch, J.L. (2014) Dynamical structure of αB-crystallin, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **115**, 11–20, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2014.03.003.
17. Jovcevski, B., Kelly, M.A., Rote, A.P., Berg, T., Gastall, H.Y., Benesch, J.L., Aquilina, J.A., and Ecroyd, H. (2015) Phosphomimics destabilize Hsp27 oligomeric assemblies and enhance chaperone activity, *Chem. Biol.*, **22**, 186–195, doi: 10.1016/j.chembiol. 2015.01.001.
18. Muranova, L.K., Weeks, S.D., Strelkov, S.V., and Gusev, N.B. (2015) Characterization of mutants of human small heat shock protein HspB1 carrying replacements in the *N*-terminal domain and associated with hereditary motor neuron diseases, *PLoS One*, **10**, e0126248, doi: 10.1371/journal.pone.0126248.
19. Sluchanko, N.N., Beelen, S., Kulikova, A.A., Weeks, S.D., Antson, A.A., Gusev, N.B., and Strelkov, S.V. (2017) Structural basis for the interaction of a human small heat shock protein with the 14-3-3 universal signaling regulator, *Structure*, **25**, 305–316, doi: 10.1016/j.str.2016.12.005.
20. Zwirowski, S., Klosowska, A., Obuchowski, I., Nillegoda, N.B., Pirog, A., Zietkiewicz, S., Bukau, B., Mogk, A., and Liberek, K. (2017) Hsp70 displaces small heat shock proteins from aggregates to initiate protein refolding, *EMBO J.*, **36**, 783–796, doi: 10.15252/embj.201593378.
21. Ahner, A., Gong, X., Schmidt, B.Z., Peters, K.W., Rabeh, W.M., Thibodeau, P.H., Lukacs, G.L., and Frizzell, R.A. (2013) Small heat shock proteins target mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator for degradation via a small ubiquitin-like modifier-dependent pathway, *Mol. Biol. Cell*, **24**, 74–84, doi: 10.1091/mbc.E12-09-0678.
22. Rusmini, P., Cristofani, R., Galbiati, M., Cicardi, M.E., Meroni, M., Ferrari, V., Vezzoli, G., Tedesco, B., Messi, E.,

Piccolella, M., Carra, S., Crippa, V., and Poletti, A. (2017) The role of the heat shock protein B8 (HSPB8) in motoneuron diseases, *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, 176, doi: 10.3389/fnmol.2017.00176.

23. Carra, S., Crippa, V., Rusmini, P., Boncoraglio, A., Minoia, M., Giorgetti, E., Kampinga, H.H., and Poletti, A. (2012) Alteration of protein folding and degradation in motor neuron diseases: implications and protective functions of small heat shock proteins, *Prog. Neurobiol.*, **97**, 83–100, doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.09.009.
24. Torrente, M.P., and Shorter, J. (2013) The metazoan protein disaggregase and amyloid depolymerase system: Hsp110, Hsp70, Hsp40, and small heat shock proteins, *Prion*, **7**, 457–463, doi: 10.4161/pri.27531.
25. Weis, J., Claeys, K.G., Roos, A., Azzedine, H., Katona, I., Schroder, J.M., and Senderek, J. (2017) Towards a functional pathology of hereditary neuropathies, *Acta Neuropathol.*, **133**, 493–515, doi: 10.1007/s00401-016-1645-y.
26. Saporta, A.S., Sottile, S.L., Miller, L.J., Feely, S.M., Siskind, C.E., and Shy, M.E. (2011) Charcot–Marie–Tooth disease subtypes and genetic testing strategies, *Ann. Neurol.*, **69**, 22–33, doi: 10.1002/ ana.22166.
27. Yoshimura, A., Yuan, J.H., Hashiguchi, A., Ando, M., Higuchi, Y., Nakamura, T., Okamoto, Y., Nakagawa, M., and Takashima, H. (2018) Genetic profile and onset features of 1005 patients with Charcot–Marie–Tooth disease in Japan, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **90**, 195–202, doi: 10.1136/jnnp-2018-318839.
28. Echaniz-Laguna, A., Geuens, T., Petiot, P., Pereon, Y., Adriaenssens, E., Haidar, M., Capponi, S., Maisonobe, T., Fournier, E., Dubourg, O., Degos, B., Salachas, F., Lenglet, T., Eymard, B., Delmont, E., Pouget, J., Juntas Morales, R., Goizet, C., Latour, P., Timmerman, V., and Stojkovic, T. (2017) Axonal neuropathies due to mutations in small heat shock proteins: clinical, genetic, and functional insights into novel mutations, *Hum. Mutat.*, **38**, 556–568, doi: 10.1002/humu.23189.
29. Adriaenssens, E., Geuens, T., Baets, J., Echaniz-Laguna, A., and Timmerman, V. (2017) Novel insights in the disease biology of mutant small heat shock proteins in neuromuscular diseases, *Brain*, **140**, 2541–2549, doi: 10.1093/ brain/awx187.
30. Jovcevski, B., Kelly, M.A., Aquilina, J.A., Benesch, J.L.P., and Ecroyd, H. (2017) Evaluating the effect of phosphorylation on the structure and dynamics of Hsp27 dimers by means of ion mobility mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **89**, 13275–13282, doi: 10.1021/acs.analchem.7b03328.
31. Clark, A.R., Lubsen, N.H., and Slingsby, C. (2012) sHSP in the eye lens: crystallin mutations, cataract and proteostasis, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **44**, 1687–1697, doi: 10.1016/j.biocel.2012.02.015.
32. Nefedova, V.V., Sudnitsyna, M.V., Strelkov, S.V., and Gusev, N.B. (2013) Structure and properties of G84R and L99M mutants of human small heat shock protein HspB1 correlating with motor neuropathy, *Arch. Biochem. Biophys.*, **538**, 16–24, doi: 10.1016/j.abb.2013.07.028.
33. Nefedova, V.V., Datskevich, P.N., Sudnitsyna, M.V., Strelkov, S.V., and Gusev, N.B. (2013) Physico-chemical properties of R140G and K141Q mutants of human small heat shock protein HspB1 associated with hereditary peripheral neuropathies, *Biochimie*, **95**, 1582–1592, doi: 10.1016/j.biochi.2013.04.014.
34. Weeks, S.D., Muranova, L.K., Heirbaut, M., Beelen, S., Strelkov, S.V., and Gusev, N.B. (2018) Characterization of human small heat shock protein HSPB1 α-crystallin domain localized mutants associated with hereditary motor neuron diseases, *Sci. Rep.*, **8**, 688, doi: 10.1038/s41598-017-18874-x.
35. Chalova, A.S., Sudnitsyna, M.V., Strelkov, S.V., and Gusev, N.B. (2014) Characterization of human small heat shock protein HspB1 that carries *C*-terminal domain mutations associated with hereditary motor neuron diseases, *Biochim. Biophys. Acta*, **1844**, 2116–2126, doi: 10.1016/j.bbapap.2014.09.005.
36. Carver, J.A., Grosas, A.B., Ecroyd, H., and Quinlan, R.A. (2017) The functional roles of the unstructured *N*- and *C*-terminal regions in αB-crystallin and other mammalian small heat-shock proteins, *Cell Stress Chaperones*, **22**, 627–638, doi: 10.1007/s12192-017-0789-6.
37. Dahiya, V., and Buchner, J. (2019) Functional principles and regulation of molecular chaperones, *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, **114**, 1–60, doi: 10.1016/bs.apcsb.2018.10.001.
38. Bucci, C., Bakke, O., and Progida, C. (2012) Charcot–Marie–Tooth disease and intracellular traffic, *Prog. Neurobiol.*, **99**, 191–225, doi: 10.1016/j.pneurobio.2012.03.003.
39. Pareyson, D., Saveri, P., Sagnelli, A., and Piscosquito, G. (2015) Mitochondrial dynamics and inherited peripheral nerve diseases, *Neurosci. Lett.*, **596**, 66–77, doi: 10.1016/ j.neulet.2015.04.001.
40. Almeida-Souza, L., Asselbergh, B., d'Ydewalle, C., Moonens, K., Goethals, S., de Winter, V., Azmi, A., Irobi, J., Timmermans, J.P., Gevaert, K., Remaut, H., Van Den Bosch, L., Timmerman, V., and Janssens, S. (2011) Small heat-shock protein HSPB1 mutants stabilize microtubules in Charcot–Marie–Tooth neuropathy, *J. Neurosci.*, **31**, 15320–15328, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3266-11.2011.
41. D'Ydewalle, C., Krishnan, J., Chiheb, D.M., Van Damme, P., Irobi, J., Kozikowski, A.P., Vanden Berghe, P., Timmerman, V., Robberecht, W., and Van Den Bosch, L. (2011) HDAC6 inhibitors reverse axonal loss in a mouse model of mutant HSPB1-induced Charcot–Marie–Tooth disease, *Nat. Med.*, **17**, 968–974, doi: 10.1038/nm.2396.
42. Benedetti, S., Previtali, S.C., Coviello, S., Scarlato, M., Cerri, F., Di Pierri, E., Piantoni, L., Spiga, I., Fazio, R., Riva, N., Natali Sora, M.G., Dacci, P., Malaguti, M.C., Munerati, E., Grimaldi, L.M., Marrosu, M.G., De Pellegrin, M., Ferrari, M., Comi, G., Quattrini, A., and Bolino, A. (2010) Analyzing histopathological features of rare Charcot–Marie–Tooth neuropathies to unravel their pathogenesis, *Arch. Neurol.*, **67**, 1498–1505, doi: 10.1001/archneurol.2010.303.
43. Almeida-Souza, L., Timmerman, V., and Janssens, S. (2011) Microtubule dynamics in the peripheral nervous system: a matter of balance, *Bioarchitecture*, **1**, 267–270, doi: 10.4161/bioa.1.6.19198.
44. Benoy, V., Vanden Berghe, P., Jarpe, M., Van Damme, P., Robberecht, W., and Van Den Bosch, L. (2017) Development of improved HDAC6 inhibitors as pharmacological therapy for axonal Charcot–Marie–Tooth disease, *Neurotherapeutics*, **14**, 417–428, doi: 10.1007/ s13311-016-0501-z.
45. Zhai, J., Lin, H., Julien, J.P., and Schlaepfer, W.W. (2007) Disruption of neurofilament network with aggregation of light neurofilament protein: a common pathway leading to motor neuron degeneration due to Charcot–Marie–Tooth disease-linked mutations in NFL and HSPB1, *Hum. Mol. Genet.*, **16**, 3103–3116, doi: 10.1093/hmg/ddm272.
46. Ackerley, S., James, P.A., Kalli, A., French, S., Davies, K.E., and Talbot, K. (2006) A mutation in the small heat-shock protein HSPB1 leading to distal hereditary motor neuronopathy disrupts neurofilament assembly and the axonal transport of specific cellular cargoes, *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 347–354, doi: 10.1093/hmg/ddi452.
47. Holmgren, A., Bouhy, D., De Winter, V., Asselbergh, B., Timmermans, J.P., Irobi, J., and Timmerman, V. (2013)

Charcot–Marie–Tooth causing HSPB1 mutations increase Cdk5-mediated phosphorylation of neurofilaments, *Acta Neuropathol.*, **126**, 93–108, doi: 10.1007/s00401-013-1133-6.
48. Srivastava, A.K., Renusch, S.R., Naiman, N.E., Gu, S., Sneh, A., Arnold, W.D., Sahenk, Z., and Kolb, S.J. (2012) Mutant HSPB1 overexpression in neurons is sufficient to cause age-related motor neuronopathy in mice, *Neurobiol. Dis.*, **47**, 163–173, doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.035.
49. Lee, J., Jung, S.C., Joo, J., Choi, Y.R., Moon, H.W., Kwak, G., Yeo, H.K., Lee, J.S., Ahn, H.J., Jung, N., Hwang, S., Rheey, J., Woo, S.Y., Kim, J.Y., Hong, Y.B., and Choi, B.O. (2015) Overexpression of mutant HSP27 causes axonal neuropathy in mice, *J. Biomed. Sci.*, **22**, 43, doi: 10.1186/s12929-015-0154-y.
50. Kim, M.V., Seit-Nebi, A.S., Marston, S.B., and Gusev, N.B. (2004) Some properties of human small heat shock protein Hsp22 (H11 or HspB8), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**, 796–801, doi: 10.1016/j.bbrc.2004.01.130.
51. Chowdary, T.K., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C.M. (2004) Mammalian Hsp22 is a heat-inducible small heat-shock protein with chaperone-like activity, *Biochem. J.*, **381**, 379–387, doi: 10.1042/BJ20031958.
52. Kim, M.V., Kasakov, A.S., Seit-Nebi, A.S., Marston, S.B., and Gusev, N.B. (2006) Structure and properties of K141E mutant of small heat shock protein HSP22 (HspB8, H11) that is expressed in human neuromuscular disorders, *Arch. Biochem. Biophys.*, **454**, 32–41, doi: 10.1016/j.abb.2006.07.014.
53. Shemetov, A.A., and Gusev, N.B. (2011) Biochemical characterization of small heat shock protein HspB8 (Hsp22)–Bag3 interaction, *Arch. Biochem. Biophys.*, **513**, 1–9, doi: 10.1016/j.abb.2011.06.014.
54. Carra, S., Boncoraglio, A., Kanon, B., Brunsting, J.F., Minoia, M., Rana, A., Vos, M.J., Seidel, K., Sibon, O.C., and Kampinga, H.H. (2010) Identification of the *Drosophila* ortholog of HSPB8: implication of HSPB8 loss of function in protein folding diseases, *J. Biol. Chem.*, **285**, 37811–37822, doi: 10.1074/jbc.M110.127498.
55. Haidar, M., Asselbergh, B., Adriaenssens, E., De Winter, V., Timmermans, J.P., Auer-Grumbach, M., Juneja, M., and Timmerman, V. (2019) Neuropathy-causing mutations in HSPB1 impair autophagy by disturbing the formation of SQSTM1/p62 bodies, *Autophagy*, **15**, 1051–1068, doi: 10.1080/15548627.2019.1569930.
56. Sharma, S.K., and Priya, S. (2017) Expanding role of molecular chaperones in regulating alpha-synuclein misfolding; implications in Parkinson's disease, *Cell. Mol. Life Sci.*, **74**, 617–629, doi: 10.1007/s00018-016-2340-9.
57. Cox, D., Carver, J.A., and Ecroyd, H. (2014) Preventing α-synuclein aggregation: the role of the small heat-shock molecular chaperone proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1842**, 1830–1843, doi: 10.1016/j.bbadis.2014.06.024.
58. Leak, R.K. (2014) Heat shock proteins in neurodegenerative disorders and aging, *J. Cell Commun. Signal.*, **8**, 293–310, doi: 10.1007/s12079-014-0243-9.
59. Cox, D., Selig, E., Griffin, M.D., Carver, J.A., and Ecroyd, H. (2016) Small heat-shock proteins prevent α-synuclein aggregation via transient interactions and their efficacy is affected by the rate of aggregation, *J. Biol. Chem.*, **291**, 22618–22629, doi: 10.1074/jbc.M116.739250.
60. Cox, D., and Ecroyd, H. (2017) The small heat shock proteins αB-crystallin (HSPB5) and Hsp27 (HSPB1) inhibit the intracellular aggregation of α-synuclein, *Cell Stress Chaperones*, **22**, 589–600, doi: 10.1007/s12192-017-0785-x.
61. Cox, D., Whiten, D.R., Brown, J.W.P., Horrocks, M.H., San Gil, R., Dobson, C.M., Klenerman, D., van Oijen, A.M., and Ecroyd, H. (2018) The small heat shock protein Hsp27 binds α-synuclein fibrils, preventing elongation and cytotoxicity, *J. Biol. Chem.*, **293**, 4486–4497, doi: 10.1074/jbc.M117.813865.
62. Mainz, A., Peschek, J., Stavropoulou, M., Back, K.C., Bardiaux, B., Asami, S., Prade, E., Peters, C., Weinkauf, S., Buchner, J., and Reif, B. (2015) The chaperone αB-crystallin uses different interfaces to capture an amorphous and an amyloid client, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 898–905, doi: 10.1038/nsmb.3108.
63. Alperstein, A.M., Ostrander, J.S., Zhang, T.O., and Zanni, M.T. (2019) Amyloid found in human cataracts with two-dimensional infrared spectroscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 6602–6607, doi: 10.1073/pnas.1821534116.
64. Lu, S.Z., Guo, Y.S., Liang, P.Z., Zhang, S.Z., Yin, S., Yin, Y.Q., Wang, X.M., Ding, F., Gu, X.S., and Zhou, J.W. (2019) Suppression of astrocytic autophagy by αB-crystallin contributes to α-synuclein inclusion formation, *Transl. Neurodegener.*, **8**, 3, doi: 10.1186/s40035-018-0143-7.
65. Boros, S., Kamps, B., Wunderink, L., de Bruijn, W., de Jong, W.W., and Boelens, W.C. (2004) Transglutaminase catalyzes differential crosslinking of small heat shock proteins and amyloid-β, *FEBS Lett.*, **576**, 57–62, doi: 10.1016/j.febslet.2004.08.062.
66. Wilhelmus, M.M., Otte-Holler, I., Wesseling, P., de Waal, R.M., Boelens, W.C., and Verbeek, M.M. (2006) Specific association of small heat shock proteins with the pathological hallmarks of Alzheimer's disease brains, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, **32**, 119–130, doi: 10.1111/j.1365-2990.2006.00689.x.
67. Zerovnik, E. (2017) Co-chaperoning by amyloid-forming proteins: cystatins vs. crystallins, *Eur. Biophys. J.*, **46**, 789–793, doi: 10.1007/s00249-017-1214-x.
68. Nafar, F., Williams, J.B., and Mearow, K.M. (2016) Astrocytes release HspB1 in response to amyloid-β exposure *in vitro*, *J. Alzheimers Dis.*, **49**, 251–263, doi: 10.3233/JAD-150317.
69. Wilhelmus, M.M., Boelens, W.C., Otte-Holler, I., Kamps, B., de Waal, R.M., and Verbeek, M.M. (2006) Small heat shock proteins inhibit amyloid-beta protein aggregation and cerebrovascular amyloid-β protein toxicity, *Brain Res.*, **1089**, 67–78, doi: 10.1016/j.brainres.2006.03.058.
70. Cameron, R.T., Quinn, S.D., Cairns, L.S., MacLeod, R., Samuel, I.D., Smith, B.O., Carlos Penedo, J., and Baillie, G.S. (2014) The phosphorylation of Hsp20 enhances its association with amyloid-β to increase protection against neuronal cell death, *Mol. Cell. Neurosci.*, **61**, 46–55, doi: 10.1016/j.mcn.2014.05.002.
71. Sotiropoulos, I., Galas, M.C., Silva, J.M., Skoulakis, E., Wegmann, S., Maina, M.B., Blum, D., Sayas, C.L., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., Spillantini, M.G., Sousa, N., Avila, J., Medina, M., Mudher, A., and Buee, L. (2017) Atypical, non-standard functions of the microtubule associated Tau protein, *Acta Neuropathol. Commun.*, **5**, 91, doi: 10.1186/s40478-017-0489-6.
72. Sierra-Fonseca, J.A., and Gosselink, K.L. (2018) Tauopathy and neurodegeneration: a role for stress, *Neurobiol. Stress*, **9**, 105–112, doi: 10.1016/j.ynstr.2018.08.009.
73. Zabik, N.L., Imhof, M.M., and Martic-Milne, S. (2017) Structural evaluations of tau protein conformation: methodologies and approaches, *Biochem. Cell Biol.*, **95**, 338–349, doi: 10.1139/bcb-2016-0227.
74. Shimura, H., Miura-Shimura, Y., and Kosik, K.S. (2004) Binding of tau to heat shock protein 27 leads to decreased concentration of hyperphosphorylated tau and enhanced cell survival, *J. Biol. Chem.*, **279**, 17957–17962, doi: 10.1074/jbc.M400351200.
75. Kumar, P., Jha, N.K., Jha, S.K., Ramani, K., and Ambasta, R.K. (2015) Tau phosphorylation, molecular chaperones, and ubiquitin E3 ligase: clinical relevance in Alzheimer's disease, *J. Alzheimer's Dis.*, **43**, 341–361, doi: 10.3233/JAD-140933.

76. Abisambra, J.F., Blair, L.J., Hill, S.E., Jones, J.R., Kraft, C., Rogers, J., Koren, J., 3rd, Jinwal, U.K., Lawson, L., Johnson, A.G., Wilcock, D., O'Leary, J.C., Jansen-West, K., Muschol, M., Golde, T.E., Weeber, E.J., Banko, J., and Dickey, C.A. (2010) Phosphorylation dynamics regulate Hsp27-mediated rescue of neuronal plasticity deficits in tau transgenic mice, *J. Neurosci.*, **30**, 15374–15382, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3155-10.2010.
77. Baughman, H.E.R., Clouser, A.F., Klevit, R.E., and Nath, A. (2018) HspB1 and Hsc70 chaperones engage distinct tau species and have different inhibitory effects on amyloid formation, *J. Biol. Chem.*, **293**, 2687–2700, doi: 10.1074/jbc.M117.803411.
78. Janowska, M.K., Baughman, H.E.R., Woods, C.N., and Klevit, R.E. (2019) Mechanisms of small heat shock proteins, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, a034025, doi: 10.1101/cshperspect.a034025.
79. Hashiguchi, M., Sobue, K., and Paudel, H.K. (2000) 14-3-3ζ is an effector of tau protein phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, **275**, 25247–25254, doi: 10.1074/jbc.M003738200.
80. Sadik, G., Tanaka, T., Kato, K., Yamamori, H., Nessa, B.N., Morihara, T., and Takeda, M. (2009) Phosphorylation of tau at Ser214 mediates its interaction with 14-3-3 protein: implications for the mechanism of tau aggregation, *J. Neurochem.*, **108**, 33–43, doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05716.x.
81. Sluchanko, N.N., Seit-Nebi, A.S., and Gusev, N.B. (2009) Effect of phosphorylation on interaction of human tau protein with 14-3-3ζ, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **379**, 990–994, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.12.164.
82. Sluchanko, N.N., Seit-Nebi, A.S., and Gusev, N.B. (2009) Phosphorylation of more than one site is required for tight interaction of human tau protein with 14-3-3ζ, *FEBS Lett.*, **583**, 2739–2742, doi: 10.1016/j.febslet.2009.07.043.
83. Sluchanko, N.N., and Gusev, N.B. (2011) Probable participation of 14-3-3 in tau protein oligomerization and aggregation, *J. Alzheimer's Dis.*, **27**, 467–476, doi: 10.3233/JAD-2011-110692.
84. Sluchanko, N.N., Sudnitsyna, M.V., Chernik, I.S., Seit-Nebi, A.S., and Gusev, N.B. (2011) Phosphomimicking mutations of human 14-3-3ζ affect its interaction with tau protein and small heat shock protein HspB6, *Arch. Biochem. Biophys.*, **506**, 24–34, doi: 10.1016/j.abb.2010.11.003.
85. Wang, K., Zhang, J., Xu, Y., Ren, K., Xie, W.L., Yan, Y.E., Zhang, B.Y., Shi, Q., Liu, Y., and Dong, X.P. (2013) Abnormally upregulated αB-crystallin was highly coincidental with the astrogliosis in the brains of scrapie-infected hamsters and human patients with prion diseases, *J. Mol. Neurosci.*, **51**, 734–748, doi: 10.1007/s12031-013-0057-x.
86. Duennwald, M.L., Echeverria, A., and Shorter, J. (2012) Small heat shock proteins potentiate amyloid dissolution by protein disaggregases from yeast and humans, *PLoS Biol.*, **10**, e1001346, doi: 10.1371/journal.pbio.1001346.
87. Rothbard, J.B., Rothbard, J.J., Soares, L., Fathman, C.G., and Steinman, L. (2018) Identification of a common immune regulatory pathway induced by small heat shock proteins, amyloid fibrils, and nicotine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 7081–7086, doi: 10.1073/pnas.1804599115.
88. Rothbard, J.B., Kurnellas, M.P., Ousman, S.S., Brownell, S., Rothbard, J.J., and Steinman, L. (2018) Small heat shock proteins, amyloid fibrils, and nicotine stimulate a common immune suppressive pathway with implications for future therapies, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 9, doi: 10.1101/cshperspect.a034223.
89. Liu, Z., Wang, C., Li, Y., Zhao, C., Li, T., Li, D., Zhang, S., and Liu, C. (2018) Mechanistic insights into the switch of αB-crystallin chaperone activity and self-multimerization, *J. Biol. Chem.*, **293**, 14880–14890, doi: 10.1074/jbc.RA118.004034.

SMALL HEAT SHOCK PROTEINS AND HUMAN NEURODEGENERATIVE DISEASES

Review

L. K. Muranova*, A. S. Ryzhavskaya*, M. V. Sudnitsyna*, V. M. Shatov*, and N. B. Gusev*,**

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119991 Moscow, Russia; E-mail: NBGusev@mail.ru

Received March 30, 2019
Revised May 4, 2019
Accepted June 27, 2019

Probable role of small heat shock proteins in different human neurodegenerative diseases like Charcot–Marie–Tooth, Parkinson's, Alzheimer's diseases, and different forms of taupathies is considered. Effect of point mutations of two small heat shock proteins HspB1 and HspB8, correlating with Charcot–Marie–Tooth disease, on the proteins' stability, oligomeric structure and their chaperone-like activity is analyzed. The analyzed point mutations affect equilibrium between different oligomeric forms of HspB1, thus leading to modification of its chaperone-like activity and of interaction with protein-partners. This can induce cytoskeleton damage and neuron death. HspB8 mutations affect its interaction with adapter protein Bag3 and the process of autophagy, thus also provoking neuron death. The data of literature concerning effect of small heat shock proteins on amyloidoses are presented and discussed. Experimental data indicate that the small heat shock proteins interact with monomers (or small oligomers) of amyloidogenic proteins, stabilize their structure, prevent their aggregation and/or promote their specific proteolytic degradation. This effect seems to be due to the interaction of β strands of small heat shock proteins with β strands of target proteins that hampers their aggregation. In addition, in cooperation with the other heat shock proteins the small heat shock proteins can promote disassembling of oligomers formed by amyloidogenic proteins. In spite of significant achievements, further additional investigations are required for understanding the role of small heat shock proteins in protection against different neurodegenerative diseases.

Keywords: small heat shock proteins, chaperone-like activity, amorphous aggregation, β-amyloids, posttranslational modifications, neurodegenerative diseases