

АГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ ПРИ КАТАРАКТЕ: РОЛЬ ВОЗРАСТНЫХ МОДИФИКАЦИЙ И МУТАЦИЙ α -КРИСТАЛЛИНОВ*

Обзор

© 2022 P. Budnar, R. Tangirala, R. Bakthisaran, Ch. M. Rao**

Centre for Cellular and Molecular Biology (CCMB), Council of Scientific and Industrial Research (CSIR),
Uppal Road, Hyderabad 500007, India; e-mail: mohan@ccmb.res.in; mohan.ccmb@gmail.com

Поступила в редакцию 05.10.2021

После доработки 02.02.2022

Принята к публикации 02.02.2022

Катаракта является основной причиной слепоты. Из-за нарушения процесса обновления белков в хрусталике глаза накапливаются возрастные и экологические модификации белков, которые изменяют их нативную конформацию, что приводит к образованию склонных к агрегации промежуточных продуктов, а также нерастворимых и светорассеивающих агрегатов, снижающих прозрачность хрусталика. Белок хрусталика, α -кристаллин, является молекулярным шапероном, который предотвращает агрегацию белка, тем самым поддерживая прозрачность хрусталика. Однако мутации или посттрансляционные модификации, такие как окисление, деамидирование, усечение и перекрестные сшивки, могут сделать α -кристаллины неэффективными и привести к обострению болезни. В настоящей работе нами описаны такие мутации и изменения, а также их последствия. Возрастные модификации α -кристаллинов влияют на их структуру, олигомеризацию и шаперонную функцию. Мутации α -кристаллинов могут привести к агрегации/внутриклеточным включениям, связанным с нарушением структуры и сборки олигомеров, что приводит к перестройке областей, склонных к агрегации. Такие структурные перестройки могут привести к обнажению до сих пор скрытых участков, склонных к агрегации, тем самым заполняя склонное к агрегации состояние (-я) и облегчая аморфную/амилоидную агрегацию и/или несоответствующие взаимодействия с клеточными компонентами. Изучение вызванных мутациями изменений в структуре, сборке олигомеров, механизмах агрегации и интерактомах α -кристаллинов будут полезны в борьбе с заболеваниями, связанными с агрегацией белков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: катаракта, агрегация, α -кристаллин.

DOI: 10.31857/S0320972522030071

ВВЕДЕНИЕ

Неправильное сворачивание белков из-за мутаций, ковалентных модификаций или факторов окружающей среды приводит к потере функций и агрегации белков, которые губительны для клеток. Поэтому в клетках развились различные механизмы контроля качества для предотвращения агрегации (шапероны) или удаления белковых агрегатов (протеасомы и аутофагосомы). Однако нарушение нормальной работы механизмов контроля качества в связи со старением или мутациями приводит к прогрессирующему накоплению белковых агрегатов и

может вызвать ассоциированные с неправильным сворачиванием белков болезни, такие как нейродегенеративные заболевания (болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона), боковой амиотрофической склероз, муковисцидоз, болезнь Гоше и катаракта.

КАТАРАКТА И АГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ

Катаракта является одной из основных причин слепоты [1]. Она возникает в результате патологического помутнения хрусталика, вызванного изменением его прозрачности и показателя преломления. Хрусталик глаза вместе с роговицей фокусируют падающий на сетчатку свет для формирования изображения. Для получения изображения без аберраций хрусталик должен быть прозрачным, с высоким показателем преломления и соответствующим градиентом показателя преломления. Чтобы соответствовать этим требованиям, хрусталик имеет уникальную

Принятые сокращения: ACD – α -кристаллиновый домен; STE – C-концевое удлинение; NTD – N-концевой домен; sHsp – малый белок теплового шока.

* Статья опубликована в рамках специального выпуска «Неправильный фолдинг и агрегация белков при катаракте» (том 87, № 2, 2022).

** Адресат для корреспонденции.

структуру и состав. Он не содержит сосудов. Кроме того, волокнистые клетки, находящиеся в центральной части хрусталика (ядро), теряют органеллы, такие как ядра, митохондрии, эндоплазматический ретикулум и рибосомы. Более того, плотная организация волокнистых клеток уменьшает межклеточное пространство. Эти стратегии удаляют или уменьшают содержание светорассеивающих структур и обеспечивают прозрачность хрусталика [2].

Хрусталик состоит в основном из белков. Волокнистые клетки хрусталика характеризуются очень высоким содержанием белка (более 70% w/v). Во время дифференцировки волокнистых клеток происходит резкое повышение уровня экспрессии кристаллинов, и они составляют ~90% от всех белков клетки. Хрусталики позвоночных животных содержат три группы кристаллинов, а именно: α , β и γ [2]. Принято считать, что кристаллины являются структурными белками. Однако α -кристаллин является не только структурным белком. Он также обладает активностью молекулярного шаперона. Прозрачность хрусталика и высокий показатель преломления достигаются за счёт плотной и ближней систематической упаковки кристаллинов в высоких концентрациях с градиентом концентрации белка ~250–400 мг/мл от внешней коры к ядру [2, 3]. Показатель преломления высок в области ядра и снижается на периферии, в среднем до значения ~1,4 [2]. Разделение белкового матрикса на обогащенную и бедную белками фазы может вызвать рассеяние света. Этого можно избежать благодаря присутствию в хрусталике глаза белка – кристаллина, который образует контакты ближнего действия с другими кристаллинами [2]. Вероятность кристаллизации белков среди компонентов кристаллинов также снижается из-за высокой полидисперсности α -кристаллинов [2]. Поскольку в хрусталике нет обновления белков, кристаллины, синтезированные внутриутробно, сохраняются на всю жизнь. Следовательно, существует потребность в системе шаперонов для сохранения белков хрусталика в их нативной конформации и для предотвращения разделения фаз/осаждения. α -Кристаллины служат в качестве молекулярных шаперонов, которые связываются с частично развернутыми белками и предотвращают их неправильное сворачивание и агрегацию.

Для объяснения образования катаракты было предложено множество теорий. С точки зрения физической химии, пространственные различия плотности белка, которые вызывают помутнение хрусталика, могут быть связаны с эффектами осмотического давления на клеточном уровне. Benedek [4] предположил, что фазовое

распределение лежит в основе молекулярных механизмов развития катаракты. При высоких концентрациях кристаллины и другие белки подвергаются самопроизвольному фазовому разделению на сосуществующие богатые и бедные белком фазы. Разделение фаз также зависит от изменений температуры, поэтому оно может быть индуцировано в интактных хрусталиках путём понижения температуры, что приводит к возникновению холодных катаракт [2]. Окислительное повреждение, индуцируемое множеством факторов, включая воздействие УФ-излучения, может вызывать образование ненативных дисульфидных связей между белковыми субъединицами, что приводит к образованию крупных необратимых агрегатов и в дальнейшем – катаракты [5]. В течение жизни кристаллины претерпевают различные необратимые ковалентные модификации, вызванные, например, УФ-облучением, дезамидированием, окислением, протеолизом и реакцией Майяра [6]. Эти ковалентные модификации приводят к дестабилизации нативной структуры кристаллинов, снижая шаперонную активность α -кристаллина и способствуя частичному разворачиванию $\beta\gamma$ -кристаллинов, что обуславливает развитие возрастной катаракты [5, 6]. Имеются также данные об агрегации амилоидного типа в хрусталиках при катаракте [7–9].

α -КРИСТАЛЛИН: ФУНКЦИЯ ШАПЕРОНА И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Кристаллины известны уже более 100 лет. Møgner в 1984 г. показал, что хрусталики глаза содержат четыре белковые фракции – нерастворимую форму, которую он назвал альбуминоидом, и три водорастворимые фракции, а именно: α -, β - и γ -кристаллины [10]. α -Кристаллин был выделен из хрусталика глаза в виде крупного полидисперсного олигомера, образованного двумя близкородственными белками (αA - и αB -кристаллины). Roy и Spector [11] обнаружили, что при старении низкомолекулярная фракция α -кристаллина исчезает из ядерного региона, хотя она присутствует в более молодых хрусталиках. Последующие исследования показали, что такие нерастворимые в воде фракции состоят из комплексов α -кристаллина с другими кристаллинами [12]. Ретроспективно, эти наблюдения можно рассматривать как указание на взаимодействие α -кристаллинов с другими белками и, вероятно, роль в возрастных изменениях, включая потерю прозрачности хрусталика. В клетках млекопитающих α -кристаллин существует в виде больших олигомеров, образован-

ных двумя генными продуктами: α A- и α B-кристаллинами. В хрусталиках большинства видов позвоночных соотношение этих белков равно 3 : 1. Однако это соотношение не постоянно и зависит от вида и возраста [2, 12]. α -Кристаллин является членом семейства малых белков теплового шока (sHsp). Он имеет характерный α -кристаллиновый доменом (ACD, ~80–100 консервативных а.о.), окружённый варибельным N-концевым доменом (NTD) и C-концевым расширением (CTE) [13, 14]. α A- и α B-кристаллины имеют ~58% гомологии последовательности друг с другом и ~45% гомологии с другими sHsp человека, такими как HspB6 [13, 14].

α -Кристаллины были впервые признаны в качестве членов семейства белков sHsp в начале 1980 гг., когда была выявлена гомология их последовательности с белками sHsp *Drosophila* [15]. Удивительно, но за следующее десятилетие не было получено экспериментальных подтверждений этого наблюдения. Первые экспериментальные доказательства того, что α -кристаллин функционирует как sHsp/молекулярный шаперон, были получены в 1992 г. в исследованиях *in vitro* Horwitz [16], который показал, что α -кристаллин предотвращает термическую агрегацию β γ -кристаллинов и алкогольдегидрогеназы. Исследования в нашей лаборатории показали, что α -кристаллин хрусталика глаза предотвращает фотоагрегацию γ -кристаллина [17], а также индуцированную нагреванием агрегацию ζ -кристаллина и карбоангидразы [18], индуцированную дитиотрейтолом (DTT) агрегацию α -лактальбумина [19] и индуцированную рефолдингом агрегацию β -кристаллина [20]. Было показано, что гомоолигомеры α A- и α B-кристаллинов проявляют шаперонную активность в отношении различных белков-мишеней, хотя и в разной степени [21, 22]. В нашей лаборатории было впервые показано, что шаперонная активность α -кристаллина зависит от температуры, поскольку она очень низка при температурах ниже 30 °C и резко возрастает при температурах выше 30 °C [17]. По-видимому, такая зависимость активности от температуры является общей чертой среди Hsps, поскольку этим белкам необходимо функционировать при недопустимых температурах. Растворимость гидрофобного красителя пирена увеличивалась в присутствии α -кристаллина в зависимости от температуры, что указывает на то что повышение температуры способствует экспонированию гидрофобных поверхностей α -кристаллина [17]. Вызванное подъёмом температуры повышение шапероноподобной активности α -кристаллина обусловлено различными факторами, в том чис-

ле изменением четвертичной структуры, увеличением содержания или реорганизацией гидрофобных поверхностей, повышением скорости субъединичного обмена [18, 20]. Исследования нашей лаборатории также показали, что α -кристаллин связывается с расплавленными глобулами белков-мишеней [19] и способствует рефолдингу ранних интермедиатов [23].

Гомоолигомеры α A- и α B-кристаллинов показали различия в температурно-зависимой активности, так как структура α B-кристаллина более чувствительна к температуре, чем структуры α A-кристаллина или гетероолигомера α -кристаллина, выделенного из хрусталика [21]. Механизм шаперонной активности α -кристаллина в отношении белков-мишеней интенсивно изучается в нашей лаборатории и в других исследовательских группах. Наши исследования показали, что α A- и α B-кристаллины взаимодействуют с индуцированными нагреванием интермедиатами разворачивания цитратсинтазы двумя способами: 1) слабо с ранним разворачиванием интермедиатов, что облегчает рефолдинг фермента в его активное состояние, и 2) сильно и необратимо с более поздним разворачиванием интермедиата с образованием растворимых комплексов, предотвращающих агрегацию белков [22]. α A- и α B-кристаллины связываются с низкой аффинностью с компактными близкими к нативному состояниям и с большей аффинностью с более развернутыми состояниями белка-мишени. Результаты, полученные в других лабораториях с использованием модели агрегации белков, таких как α -кристаллин, лизоцим T4 и его мутанты, позволили предположить, что α A- и α B-кристаллины связываются с субстратами как с низким, так и с высоким родством [24, 25]. Переход в высокоаффинный режим может быть вызван температурой, рН или фосфорилированием белка [26]. Было также показано, что α -кристаллин предотвращает амилоидную агрегацию аполипопротеина С-II и серпина, взаимодействуя с частично структурированными интермедиатами, что позволяет предположить ингибирование α -кристаллином стадии образования ядра при амилоидогенезе [27, 28]. Нами было показано, что α B-кристаллин предотвращает образование фибрилл A β ₄₀ и A β ₄₂, взаимодействуя с центрами образования фибрилл A β ₄₀ [29]. С помощью методов кварцевого кристаллического микробаланса, аналитического ультрацентрифугирования и систем обнаружения одиночных молекул, таких как конфокальная двухцветная детекция совпадений и микроскопия полного внутреннего отражения, было показано, что α B-кристаллин предотвращает фибрилляцию A β за счёт связы-

ваясь с олигомерным и фибриллярным ядром А β [30, 31]. Нами и в других лабораториях также было показано, что α В-кристаллин также предотвращает фибрилляцию α -синуклеина [13].

Полидисперсная природа α -кристаллинов затруднила их кристаллизацию и структурные исследования. Однако можно получить кристаллы домена АСD и изучить его структуру с помощью методов рентгеновской дифракции. Было обнаружено, что домены АСD (~80 а.о.) в обоих кристаллинах характеризуются наличием β -цепей. В общей сложности семь β -цепей (β 3– β 9) расположены в виде иммуноглобулиноподобного β -сэндвича, в котором три цепи (β 3– β 9– β 8) расположены антипараллельно остальным четырём β -цепям (β 4– β 5– β 6– β 7), соединённым короткой петлёй [13, 32]. С помощью биохимических методов было показано, что экспрессия АСD α А- или α В-кристаллинов приводит к образованию димеров и потере высокомолекулярных олигомеров [13, 32]. Домен NTD у α А и α В-кристаллинов образован ~65 а.о., обогащён гидрофобными а.о. и неупорядочен. Усечение NTD или делеция консервативных мотивов SRLFDQFFG и FLRPSWF оказывали влияние на сборку олигомеров α В-кристаллина, приводя к превращению димеров в гексамеры или меньшие олигомеры [33, 34]. Исследования с использованием ЯМР твёрдого тела позволили понять структуру N-концевого участка. Было показано, что он содержит две короткие α -спирали (а.о. 14–17 и 27–31) и двухцепочечную антипараллельную β -складчатую структуру (а.о. 48–50 и 61–63), соединённые длинной петлёй [35]. Домен СТЕ в α А- и α В-кристаллинах содержит примерно 20 а.о. и является гибким и полярным участком. Он содержит высококонсервативный мотив IXI, который облегчает образование олигомеров, действуя как «якорная точка», тем самым способствуя полидисперсности α -кристаллина [13]. Несколько исследований показали, что делеция домена СТЕ из α А- и α В-кристаллинов влияет на четвертичную структуру и распределение олигомеров. Делеции или мутации в СТЕ α В-кристаллине уменьшают размер олигомеров и влияют на сольбилизацию субстратов [36, 37]. Поскольку было показано, что потеря шаперонной активности ассоциирована с патологиями, нами была предпринята попытка увеличить его активность, руководствуясь нашим наблюдением, что она может активироваться температурно-зависимыми структурными возмущениями. Нами получены генно-инженерные химерные белки со значительно более высокой шаперонной активностью, что свидетельствует о том, что структурная организация и шаперонная актив-

ность sHsps зависят от последовательности и длины СТЕ, NTD и консервативных мотивов [36, 38].

Основываясь на результатах ЯМР твёрдого тела, малоуглового рентгеновского рассеяния (SAXS) и электронной микроскопии (ЕМ) была предложена модель полноразмерного α В-кристаллина в виде симметричного мультимера из 24 субъединиц, связанных через иерархию взаимодействий с участием АСD, СТЕ и NTD. Сначала два АСD связываются, образуя димер. Три димера связываются друг с другом с образованием гексамера за счёт взаимодействия консервативного мотива IXI С-конца в одном димере с гидрофобными карманами (цепи β 4 и β 8) другого димера [32, 39]. Гексамеры связываются в мультимеры более высокого порядка посредством различных взаимодействий с участием NTD [35, 39]. Эта модель согласуется со структурными данными. Однако предстоит ещё согласовать полидисперсность, которая часто упоминается в случае α В-кристаллина, с существованием симметричного 24-мера.

В хрусталике человека α А-кристаллин существует как в окисленной, так и в восстановленной форме благодаря наличию двух остатков цистеина. Kaiser et al. [40] исследовали структуру олигомеров α А-кристаллина в окисленном и восстановленном состояниях, используя набор различных методов, таких как крио-ЕМ, перекрёстные сшивки/масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия, молекулярное моделирование. Они показали, что олигомеры α А-кристаллина в основном существуют в виде 12-, 16- и 20-мерных структур, которые можно преобразовать друг в друга путём добавления или вычитания тетрамеров. Процесс сборки происходит через образование тетрамеров, в которых два димера β 7-интерфейса связываются друг с другом через N-концевые фрагменты. Тетрамерные звенья связываются далее через N-концевые взаимодействия с образованием ансамблей более высокого порядка. Усиленная динамика домена СТЕ приводит к обмену доменами между димерами и определяет гетерогенность олигомеров. Хотя α А- и α В-кристаллины обладают высокой гомологией и сходной длиной последовательности, они образуют разные олигомерные сборки, используя сходный тип взаимодействий. Димеризация происходит с участием β 7-интерфейса, в то время как олигомеризация опосредована N-концевыми взаимодействиями и связыванием IXI с близлежащим промотором. Однако СТЕ α В-кристаллина участвует в формировании гексамерных частиц, тогда как СТЕ α А-кристаллина участвует в сборке олигомеров более высокого порядка в трёхмерной форме с обменом доме-

нов. Следовательно, *N*-концевые взаимодействия важны для образования олигомеров α A-кристаллина [40].

ВОЗРАСТНЫЕ МОДИФИКАЦИИ α -КРИСТАЛЛИНА И КАТАРАКТА

Кристаллины, включая α -кристаллин, являются долгоживущими белками хрусталика и поэтому подвержены возрастным модификациям. Эпидемиологические исследования показали, что экологические и профессиональные факторы повышают риск возникновения возрастных катаракт [41]. В большом числе исследований было показано, что нерастворимая в воде фракция увеличивается в хрусталике с возрастом и при развитии катаракты [42, 43]. В α A- и α B-кристаллинах из хрусталиков пожилых людей и при наличии катаракты были обнаружены многочисленные посттрансляционные модификации, такие как деамидирование, окисление, ацетидирование, метилирование, изомеризация, карбамоилирование и фосфорилирование (табл. 1).

УФ-облучение способствует развитию возрастной катаракты [47]. Хрусталик имеет УФ-фильтры на основе триптофана, такие как кинуренин, 3-гидроксикинуренин и глюкозид 3-гидроксикинуренин, которые поглощают УФ-излучение. Однако УФ-индуцированное фотовозбуждение приводит к образованию свободных радикалов и активных форм кислорода, которые окисляют метиониновые, триптофановые и цистеиновые остатки α -кристаллина и приво-

дят к недисульфидной ковалентной сшивке и олигомеризации [48, 49]. Воздействие УФ-излучения вызывает существенные изменения вторичной и третичной структуры и нарушает шапероноподобную активность α -кристаллина [50].

Окисление является одной из наиболее частых причин посттрансляционной модификации, наблюдаемой в хрусталике, где оно обычно влияет на остатки метионина, триптофана, тирозина, цистеина и гистидина в α -кристаллине (табл. 1). При воздействии УФ-излучения в хрусталике глаза быка окислению подверглись остатки M1 и M168 в α A-кристаллине и остатки M1, W9, W60 и M68 – в α B-кристаллине [48]. В исследованиях *in vitro* было показано, что окисление α A- и α B-кристаллинов вызывает значительные изменения их вторичной и четвертичной структур и образование низкомолекулярных частиц, не обладающих шаперонной активностью [51].

Деамидирование представляет собой другой типичный пример посттрансляционной модификации, которая чаще наблюдается в нерастворимой в воде фракции нормального хрусталика и хрусталика при катаракте. Деамидирование превращает амид в боковой цепи остатков аспарагина и глутамина в остаток карбоновой кислоты и внедряет отрицательный заряд в молекулу белка, тем самым дестабилизируя его структуру. Масс-спектрометрические исследования показали, что деамидирование происходит в остатках Q6, Q50, Q90, N101, Q104, N123 и Q147 в α A-кристаллине и остатках N78, Q108, N146 – в α B-кристаллине (табл. 1). Было обнаружено,

Таблица 1. Посттрансляционные/возрастные изменения в α -кристаллинах

Посттрансляционная модификация	Затронутые аминокислотные остатки	Ссылки
Деамидирование	Q6, Q50, Q90, N101, Q104, N123, Q147 в α A-кристаллине; N78, Q108, N146 в α B-кристаллине	[44, 45]
Окисление	M1, W9, Y18, Y34, M138, C142 в α A-кристаллине; M1, H7, W9, Y48, W60, M68 в α B-кристаллине	[44, 45]
Ацетилирование	M1, K70, K78, K88, K145 в α A-кристаллине; M1, K92 в α B-кристаллине	[44, 45]
Метилирование	R21, K88 в α A-кристаллине R22, R50 в α B-кристаллине	[44, 45]
Изомеризация/эпимеризация	S20, D58, S59, S62, D151, S162 в α A-кристаллине; S19, S21, S53, S59, D62, S85, D109 в α B-кристаллине	[45]
Фосфорилирование	T13, S45, S122, T140 в α A-кристаллине; S19, S21, S43, S45, S53, S59, S76 в α B-кристаллине	[44, 45]
Карбамоилирование	K92 в α B-кристаллине	[45, 46]

что α -кристаллин хрусталика при катаракте сильно деамидирован по сравнению с белками нормального хрусталика. Влияние возрастного деамидирования на структурно-функциональные свойства α -кристаллина изучали с использованием различных имитирующих дезамидирование мутантов α A-кристаллина (N101D, N123D и N101D/N123D) и α B-кристаллина (N78D, N146D и N78D/N146D) [52]. Мутантные формы α A-кристаллина показали изменённую вторичную структуру и микроокружение; гомомеры с дезамидированием по остатку N123 показали значительное снижение шаперонной активности [52, 53]. Деамидирование остатка N146 повлияло на структуру и функции α B-кристаллина [54].

Другой посттрансляционной модификацией, которая возникает при старении хрусталика и при катаракте, является фосфорилирование α -кристаллина (табл. 1). Исследования α -кристаллина хрусталика человека и его модификаций с возрастом и при развитии катаракты с помощью метода MALDI-MS выявили повышенное количество фосфорилированного α B-кристаллина в кортикальных участках хрусталика пожилых людей [55]. Протеомный анализ хрусталика при врождённой катаракте показал, что фосфорилирование α A-кристаллина происходит по остаткам T13, S45, S122 и T140, а α B-кристаллина — по остаткам S19, S21, S43, S45, S53, S59 и S76 [56]. Фосфопротеомная характеристика нормального хрусталика и хрусталика при катаракте и последующий количественный анализ выявил более высокие уровни фосфорилирования α -кристаллина (T153 — в α A-кристаллине и S19, S76 — в α B-кристаллине) в хрусталике при катаракте [57]. Фосфорилирование α B-кристаллина с возрастом усиливается. Ему также способствуют стресс и болезни [58]. В ряде работ было проведено определение уровня фосфорилирования α B-кристаллина. Уровень фосфорилирования α B-кристаллина в культивированных тканях хрусталика крыс составил ~0,25 моль фосфата на моль белка [59]. Уровень фосфорилирования α B-кристаллина в хрусталике быка в первые три года жизни увеличивался до 0,25 моль фосфата на моль белка и далее оставался без изменений [59, 60]. α A-Кристаллин, напротив, может фосфорилироваться до уровня 0,5 моль фосфата на моль белка [59, 60]. Обычно фосфорилирование α B-кристаллина происходит по остаткам S19, S45 и S59. Фосфорилирование α B-кристаллина может быть как полезным, так и вредным в зависимости от его уровня. Фосфорилирование лишь одного остатка (это либо S45, либо S59) увеличивает шаперонную активность этого белка, в то время как

гиперфосфорилирование по двум остаткам (S45 и S59) увеличивает его долю в нерастворимой фракции [58]. Мутантная форма α B-кристаллина R120G подвергается гиперфосфорилированию и переходит в нерастворимые фракции [61, 62]. Более раннее исследование в нашей лаборатории с использованием мутантов, имитирующих фосфорилирование, показало, что гиперфосфорилирование α B-кристаллина R120G (S19D/S45D/S59D-R120G α B-кристаллин или 3D-R120G α B-кристаллин) увеличивает его склонность к агрегации [58].

Другой часто наблюдаемой посттрансляционной модификацией в стареющих хрусталиках является рацемизация/изомеризация, при которой L-формы серина и аспарагиновой кислоты переходят в их D-формы. В табл. 1 перечислены аминокислотные остатки, подвергающиеся изомеризации в α A- и α B-кристаллинах. α A-Кристаллин более подвержен изомеризации, чем α B-кристаллин, из-за высокого содержания остатков аспарагиновой кислоты [63]. При старении в α A-кристаллине подвергаются изомеризации остатки D58 и S59/62, и их D-изоформа чаще встречается в хрусталиках с катарактой, чем в нормальных хрусталиках [64, 65]. Изомеризация вызывает изменения структуры α -кристаллина. Так, изомеризация остатков D58, D84 и D151 α A-кристаллина, наблюдаемая в состарившемся хрусталике, приводит к нарушению его гетерополимерной структуры высокого порядка и снижению растворимости белка, что в конечном итоге вызывает развитие катаракты [64]. В α B-кристаллине изомеризация остатка D109 разрушает важный для белка солевой мостик с остатком R120 на поверхности димера, что приводит к aberrантной олигомеризации. Остатки S59 и D62 участвуют в образовании интерфейса, образуя кластер солевого мостика с R163 и E165 соседнего мономера [66]. Изомеризация остатка D62 влияет на фосфорилирование остатка S59, тем самым нарушая формирование солевого мостика и разрушая поверхность раздела, что изменяет динамику олигомеризации [66]. Эпимеризация остатка S162 существенно ослабляет межсубъединичное связывание [66]. При диабете гипергликемия способствует протеканию неферментативных реакций, таких как гликирование и окисление, что приводит к образованию конечных продуктов гликирования (AGE) и ускоряет реакции Майяра в кристаллинах хрусталика, приводя к развитию возрастной катаракты [67, 68].

Исследования хрусталиков быка и крысы *in vitro* показали, что гликирование по остаткам лизина повышает восприимчивость кристалли-

нов к сульфгидрильному окислению и приводит к образованию высокомолекулярных агрегатов с дисульфидными поперечными связями [69]. Хотя гликирование не вызывает заметных изменений структуры α -кристаллина, тем не менее оно способствует значительному снижению его шаперонной активности [70]. Усечение белка является одним из наиболее распространённых в хрусталиках видов модификации, когда удаление части аминокислотной последовательности как с *N*-, так и с *C*-концов приводит к образованию нескольких пептидных фрагментов. Модификации, такие как деамидирование и изомеризация, увеличивают вероятность усечения белковой молекулы. α -Кристаллины подвергаются нескольким усечениям в основном на *C*-конце: участки усечения включают остатки S172, S162, N101, D58 и L40 в α A-кристаллине и K174, T170, T40 и E34 – в α B-кристаллине (см. [43, 55] и обзор [71]). Было обнаружено, что в состарившихся хрусталиках *N*-концевой участок α A-кристаллина укорочен на 3 остатка, в то время как *N*-концевой участок α B-кристаллина может быть укорочен на 1 или 6 остатков [72]. В нашей лаборатории при сотрудничестве с группой Garland в хрусталике человека с катарактой выявили усечённую форму α B-кристаллина, у которой отсутствовал *C*-концевой остаток лизина [73]. Эта укороченная форма, обозначаемая как α V_g, обладала более кислыми свойствами и мигрировала немного ниже, чем полноразмерный белок в SDS-PAGE. Количество α V_g варьировало от 10 до 90% от общего количества α B-кристаллина. Исследования *in vitro* показали, что шаперонная активность α V_g была сравнима с активностью нормального α B-кристаллина [73]. Удаление *C*-концевых остатков в рекомбинантном укороченном (151 а.о.) α A-кристаллине влияло на его олигомеризацию и обмен субъединицами [44]. Мутантные формы α A- и α B-кристаллинов, у которых на *C*-конце были удалены 16 а.о., демонстрировали пониженную шаперонную активность [74]. Усечение α -кристаллина также приводит к образованию низкомолекулярных пептидов, которые обнаруживаются в состарившихся хрусталиках человека и ассоциируются с помутнением хрусталика и катарактой [75, 76]. Было показано, что пептид α A66-80 из α A-кристаллина связывается с растворимым α -кристаллином, ослабляет его шаперонную активность и вызывает его агрегацию [77]. Пептид α A66-80 также образовывал амилоидные фибриллы, способствовал появлению перекиси водорода и индуцировал апоптоз клеток [78].

Среди других видов модификации α -кристаллина следует отметить ацетилирование и

карбамоилирование остатков лизина (табл. 1). В хрусталике человека ацетилирование происходит по остаткам K70 и K99 в α A-кристаллине и K92 и K166 – в α B-кристаллине [44]. Определение шаперонной активности мутантной формы K70Q α -кристаллина, имитирующей ацетилированную форму белка, выявило изменения структуры белка и различную шаперонную активность этого белка в зависимости от белка-клиента [79]. Было обнаружено, что карбамоилирование белков хрусталика, которое считается возрастным процессом, повышено в ядре хрусталика по сравнению с областью коры [71]. При катаракте наблюдалось карбамоилирование остатка K92 в α B-кристаллине [46].

С процессом агрегации белков, происходящим во время развития катаракты, ассоциированы белок-белковые перекрёстные сшивки. Усечение и посттрансляционные модификации, такие как окисление, деамидирование, и изомеризация, запускают процесс белок-белковых перекрёстных сшивок кристаллинов, в основе которых лежат различные механизмы (через дегидроаланин (DHA), промежуточное образование сукцинимид аспарагина и усечение или *C*-концевой промежуточный продукт янтарного ангидрида) [71]. Протеомные исследования показали, что α -кристаллин подвергается белок-белковому сшиванию, которое включает реакцию остатков лизина неферментативно усечённого белка с *C*-концевыми остатками аспартата [71, 80]. Этот двухфазный механизм включает в себя два спонтанных события – расщепление белка и перекрёстное сшивание. Расщепление белка может происходить при pH 5–7,4 и включает отщепление пептида на *C*-концевой стороне остатка аспарагиновой кислоты, который затем подвергается спонтанной циклизации с образованием *C*-концевого промежуточного продукта в виде ангидрида аспартата. Следующим этапом является сшивание, когда *C*-концевой промежуточный ангидрид Asp реагирует либо с водой с образованием аспартата, либо с нуклеофилом, таким как ϵ -аминогруппа лизина или *N*-концевая аминогруппа, с образованием ковалентной белок-белковой перекрёстной сшивки [80]. Протеомный анализ хрусталика при катаракте позволил выявить различные перекрёстные сшивки в α A-кристаллине, α B-кристаллине, γ C/D-кристаллине и γ S-кристаллине. Были идентифицированы следующие перекрёстные сшивки: α A-кристаллин K78– α A-кристаллин D58, α A-кристаллин D151– α B-кристаллин K82, α A-кристаллин D151– α B-кристаллин K150, α B-кристаллин D129– α B-кристаллин K82, α B-кристаллин D129– α B-кристаллин K90, α B-кристаллин D129– α B-кристал-

лин K121, α A-кристаллин D151– γ C/ γ D-кристаллин G2 [71, 80]. Большинство сшивок представляли амидные связи между боковой цепью лизина пептида и C-концевым остатком аспарагиновой кислоты другого пептида. Интересно, что перекрёстная сшивка α A-кристаллин D151– γ C/ γ D-кристаллин G2 включала амидную связь, образованную N-концевой группой γ C/D-кристаллина с C-концевым аспаратом (D151) α A-кристаллина [71, 80].

Таким образом, при старении белки хрусталика, в том числе α -кристаллин, претерпевают множественные ковалентные модификации, усечения и сшивки. Эти модификации могут происходить одновременно или независимо друг от друга, и они могут влиять на структуру, олигомеризацию и шаперонную функцию α -кристаллина, вызывая снижение растворимости и усиливая агрегацию белка, и делая хрусталик склонным к развитию возрастной катаракты.

МУТАЦИИ α -КРИСТАЛЛИНА И КАТАРАКТА

Мутации в α A- и α B-кристаллинах могут приводить к развитию аутосомальных врождённых катаракт различного фенотипа (табл. 2 и 3). Связанные с катарактой мутации α -кристаллина могут быть миссенс-мутациями, сдвигом рамки считывания или нонсенс-мутациями. Большинство этих мутаций являются аутосомально-доминантными и вызывают врождённые катаракты, тогда как некоторые мутации являются рецессивными (табл. 2 и 3). Первой зарегистрированной мутацией α -кристаллина, вызывающей развитие катаракты, была одиночная миссенс-мутация R116C α A-кристаллина, которая индуцировала развитие аутосомально-доминантной катаракты [81]. Vicart et al. сообщил о втором случае, в котором катаракта и десмин-ассоциированная миопатия были вызваны миссенс-мутацией R120G в α B-кристаллине (табл. 3).

Таблица 2. Мутации α A-кристаллина, вызывающие катаракту (CRYAA)

Домен	Мутация	Болезнь	Морфология катаракты	Ссылки
NTD	W9X	CC (AR)	ядерная	[82]
	R12C	CC (AD)	задняя, полярная, ядерная и пластинчатая	[83, 84]
	R12L	CC(AD)	ядерная	[85]
	R21L	CC (AD)	центральная задняя	[83, 86]
	R21W	CC (AD)	пластинчатая ядерная, полярная, передняя полярная	[83, 84, 87]
	R21Q	CC (AD)	пластинчатая	[88]
	R49C	CC (AD)	ядерная, пластинчатая	[89]
	R54C	CC (AR/AD)	полная, ядерная	[84, 90]
	R54P	CC (AD)	помутнение Y-образного шва с вовлечением ядра	[91]
	R54L	CC (AD)	ядерная	[92]
	R65Q	ARC	неизвестно	[93]
	F71L	ARC (AR)	неизвестно	[94]
	G98R	PC (AD)	периферическая, кольцевидное помутнение	[95]
ACD	R116C	CC (AD)	поясничная центральная ядерная, ядерная	[81, 96, 97]
	R116H	CC (AD)	точечная, ядерная, полная	[83, 98, 99]
	p.116_118del	CC (AD)	неизвестно	[100]
	R117H/Y118del	CC (AD)	неизвестно	[101]
	R117del	CC (AD)	неизвестно	[102]
	R119H	ARC	неизвестно	[93]
СТЕ	A152del	CC	неизвестно	[103]

Примечание. Принятые сокращения: NTD – N-концевой домен; ACD – α -кристаллиновый домен; СТЕ – C-концевое удлинение; CC – врождённая катаракта; ARC – возрастная катаракта; PC – пресенильная (ранняя) катаракта (AD – аутосомально-доминантная; AR – аутосомально-рецессивная).

Таблица 3. Мутации α В-кристаллина, вызывающие заболевания (CRYAB)

Домен	Мутация	Болезнь	Морфология катаракты	Ссылки
NTD	R11H	CC (AD)	ядерная	[104]
	R11C	CC (AR)	ядерная	[105]
	R12C	CC (AR)	ядерная	[105]
	P20S	CC (AD)	задняя полярная	[106]
	P20R	CC (AD)	задняя полярная	[107]
	60delC (S21AfsX24)	MFM (AR)	неприменимо	[108]
	R56W	CC (AR)	плотная полная белая	[109]
ACD	R69C	CC (AD)	неизвестно	[101]
	D109A	CC, MFM(AD)	неизвестно	[110]
	D109G	AxM/RCM (AD)	неизвестно	[111]
	D109H	CC, MFM (AD)	задняя полярная	[112]
	R120G	DRM, CC (AD)	неизвестно	[113]
	D140N	CC (AD)	пластинчатая	[114]
CTE	Q151X	MFM (AD)	неприменимо	[115]
	G154S	DM	неприменимо	[116]
	R157H	DCM (AD)	неприменимо	[117]
	A171T	CC (AD)	пластинчатая	[84]
	450delA (K150NfsX35)	CC (AD)	задняя полярная	[118]
	464delCT (P155Rfs9)	MFM (AD)	неприменимо	[115]
	343delT (S115fs129X)	MFM (AR; infantile onset)	неприменимо	[119]
	514delG (Ala172ProfsTer14)	CC, MFM (AD)	неприменимо	[120]
	X176Wfs19	DCM, CC (AD)	неизвестно	[121]
	X176Yfs19	CC (AD)	задняя полярная	[122]

Примечание. Принятые сокращения: ACD – α -кристаллиновый домен; AxM/DM/MFM, axial/distal/myofibrillar myopathy – аксиальная/дистальная/миофибриллярная миопатия; CTE – C-концевое удлинение; CC – врожденная катаракта; DCM – дилатационная кардиомиопатия; DRM – миопатия, ассоциированная с десмином; NTD – N-концевой домен; RCM – рестриктивная кардиомиопатия (AD – аутосомально-доминантная; AR – аутосомально-рецессивная).

Большинство мутаций в домене NTD α А-кристаллина, вызывающих катаракту, являются доминантными миссенс-мутациями консервативного остатка аргинина. Одна нонсенс-мутация (W9X) вызывает появление укороченной формы α А-кристаллина, дающей начало рецессивной врожденной катаракте (табл. 2). Аналогично, мутации в домене NTD α В-кристаллина также являются миссенс-мутациями консервативных остатков аргинина (R11H, R12C, R56W) и пролина (P20R), что приводит к доминантной или рецессивной врожденным катарактам. Биофизические исследования мутаций в N-концевых участках, вызывающих катаракту (R11H, P20S R56W), показали, что мутант R11H обра-

зует более мелкие олигомеры, тогда как мутанты P20S и R56W образуют более крупные олигомеры, чем олигомеры, генерируемые α В-кристаллином дикого типа. Мутант P20S показал более низкую термостабильность, чем белок дикого типа. Мутанты P20S и R56W проявляли более низкую шаперонную активность, чем α В-кристаллин дикого типа, при тестировании против УФ-облученного β ₁-кристаллина, используемого в качестве субстрата [123]. В α А- и α В-кристаллинах домен ACD участвует в процессе образования димера. Этот домен состоит из консервативных аминокислотных остатков, образующих β -сэндвич-домен. Мутации, вызывающие катаракту в ACD α А-кристаллина, за-

трагивают консервативные остатки глицина и аргинина (G98R и R116C соответственно; табл. 2). Рекомбинантный α A-кристаллин с мутацией R116C демонстрирует структурные изменения, приводящие к увеличению полидисперсности и снижению обмена субъединиц и активности шаперонов [124, 125]. Мутация G98R в α A-кристаллине вызывает пресенильную (раннюю) катаракту с дебютом в возрасте ~ 18 лет [95]. Исследования, проведённые в нашей лаборатории, показали, что мутант G98R претерпевает нарушение фолдинга, в результате чего происходит образование телец включения [126]. При солюбилизации и рефолдинге мутантный белок демонстрировал изменения вторичной, третичной и четвертичной структур и образовывал более крупные олигомеры, лишённые шаперонной активности [126]. Мутации в α B-кристаллине, ассоциированные с развитием катаракты и/или миопатии, происходят в домене ACD, затрагивая остатки аргинина и аспарагиновой кислоты (R69C, D109H, R120G и D140N; табл. 3). Биофизические и биохимические исследования мутантной формы R120G α B-кристаллина выявили изменения во вторичной и четвертичной структурах этого белка и пониженную шаперонную активность [125, 127]. Мутантная форма R120G α B-кристаллина аномально взаимодействовала с компонентами клетки (например, с десмином), в результате чего происходило образование белковых агрегатов, токсичных для клетки [128]. Изучение мутантных форм R69C и D109H выявило изменения в их структуре (вторичной, третичной и четвертичной), повышенную склонность к амилоидогенезу и снижение шапероноподобной активности [129]. Мутация D140N оказывала влияние на третичную/четвертичную структуру α B-кристаллина, что приводило к более крупным агрегатам и снижению термостабильности [114]. Мутант D140N лишён шапероноподобной активности и ингибирует шаперонную функцию α B-кристаллина дикого типа, проявляя себя как доминантно-негативный мутант [114]. Аминокислотные остатки D109, R120 и D140 являются высококонсервативными и образуют ключевую структуру домена типа β -сэндвич: поверхность димера образует основу общей бороздки с остатками R120, присутствующими на обоих концах, взаимодействующими с D109 с образованием солевого мостика, который помогает для создания общей интерфейсной бороздки в α B-кристаллине [130]. Доминантные мутации, такие как R120G или D109G, разрушают этот солевой мостик, тем самым нарушая структуру бороздки и конформацию расширен-

ного домена типа β -сэндвич [112, 130]. Аналогичным образом, остаток D140, располагающийся на шпилечной петле, соединяющей $\beta 8$ – $\beta 9$, образует солевой мостик с остатком H83, расположенным на дуге $\beta 3/\beta 4$ в β -сэндвич-домене [114, 130]. Следовательно, можно было ожидать, что все три мутации повлияют на ионно-парные взаимодействия, происходящие в петле и дуге и связанные с формой расширенного нижнего листа димера.

C-Концевой участок α -кристаллина важен для гибкости белковой молекулы и её растворимости. Доминантные мутации G154S и R157H в этом участке вызывают лёгкую кардиомиопатию без развития катаракты, тогда как мутация A171T вызывает врождённую пластинчатую катаракту (табл. 3). Исследование мутантных по C-концу форм (G154S, R157H и A171T) показало, что мутантная форма R157H образует более мелкие олигомеры, чем α B-кристаллин дикого типа. Мутанты проявляли более низкую термостабильность и образовывали агрегаты при более низкой температуре, чем белок дикого типа. Они также различались по образованию гетероолигомерных комплексов с HspB4 и HspB6. Шаперонная активность мутантных форм G154S и A171T была ниже, чем α B-кристаллина дикого типа [131]. Однако нонсенс-мутация A152del в α A-кристаллине [103] и мутации со сдвигом рамки считывания Ala172ProfsTer14, X176Wfs19 и X176Yfs19 в α B-кристаллине [121, 122] оказались связаны с аутосомально-доминантными врождёнными катарактами. Недавно была идентифицирована новая доминантная мутация со сдвигом рамки считывания — c.514delG (p.Ala172ProfsTer14), которая вызывает мульти-системное заболевание, характеризующееся врождёнными катарактами, гипотонией, миопатией, нарушением дыхания и дисфагией [120]. Эта новая мутация приводит к сдвигу рамки считывания в позиции Ala172, приводя к добавлению 12 новых а.о. и удлинению молекулы белка до 184 а.о. Биоинформационный анализ показал повышенную гидрофобность и снижение гибкости C-концевого домена мутантного белка, что в конечном итоге влияет на его растворимость и шаперонную активность [120]. Мутация p.X176Y приводит к потере стоп-кодона, приводя к добавлению 19 а.о. к α B-кристаллину дикого типа [122]. Биоинформатический анализ предсказал, что добавление 19 а.о. вызывает образование новых вторичных структур (α -спираль и случайный клубок) и образует удлинённую цепь в третичной структуре, что делает мутантный белок патогенным для клетки из-за повышения его гидрофобности и снижения его стабильности [122].

МУТАЦИИ α -КРИСТАЛЛИНА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА АГРЕГАЦИЮ БЕЛКА

Большинство мутаций α -кристаллинов, представленных в табл. 2 и 3, являются аутосомно-доминантными негативными мутациями. Мутации α -кристаллинов могут индуцировать разворачивание белков и образование гомо- и гетероагрегатов, которые могут быть токсичными для клетки. Различные мутантные формы α A- и α B-кристаллинов при экспрессии в бактериях/клетках образуют агрегаты/тельца включения (табл. 4).

Как показано в табл. 4, различные ассоциированные с катарактой мутантные формы α A-кристаллина образуют тельца включения/агрегаты. Отдельные мутантные формы α A-кристаллинов (например, R49C и R54C) образуют агрегаты в ядре. Исследования на мышинной модели с нокаутом показали, что мутация R49C приводит к снижению растворимости и повышению гидрофобности белка. Мутантный белок агрегирует с образованием катаракты, вероятно, за счёт повышенной гидрофобности и связывания с β - и γ -кристаллинами [141].

Различные исследования, включая наши недавние результаты, показывают, что в мутантной форме R54C наблюдаются лишь небольшие структурные изменения, и её шаперонная активность сравнима с активностью белка дикого типа [133, 142]. Мы обнаружили, что, в отличие от диффузной локализации α A-кристаллина дикого типа в цитоплазме клеток эпителия хрусталика SRA01/04, мутантная форма R54C α A-кристаллина образует спеклы в цитоплазме и в ядре. Она также сильнее связывалась с нуклеосомными гистонами, чем белок дикого типа, и вызывала стрессоподобный ответ и апоптоз [133]. Изучение вызывающих врождённую катаракту мутаций остатка R54 (R54C, R54L, R54P) показало, что эти замены приводят к структурным изменениям, понижают термостабильность белка, снижают шаперонную активность и повышают склонности к амилоидогенезу [143].

Ранее нами было показано, что мутантная форма G98R α A-кристаллина, при её экспрессии в бактериальных клетках, образует агрегаты и тельца включения [126]. Она также проявляет изменённую шапероноподобную активность, которая модулируется ионами Cu^{2+} [126, 144, 145].

Аналогично, различные вызывающие болезни мутации α B-кристаллина приводят к образованию телец включения/агрегатов (табл. 4). Исследование Raju и Abraham [135], посвящённое изучению различных мутаций α B-кристаллина, вызывающих врождённую катаракту и кардиомиопатию в клетках млекопитающих, показало,

что мутантные формы D109N, R120G, D140N и R157H образуют больше агрегатов, чем другие мутантные белки [135]. Однако следует отметить, что для мечения мутантных белков авторы использовали в своей работе жёлтый флуоресцентный белок (YFP). Поэтому нельзя исключить, что этот флуоресцентный белок, слитый с мутантным белком, мог бы влиять на его агрегацию. В различных экспериментах *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo* (на трансгенных мышах) была показана агрегация и образование телец включения мутантной формой R120G α B-кристаллина, взаимодействующей с десмином [128, 137, 146].

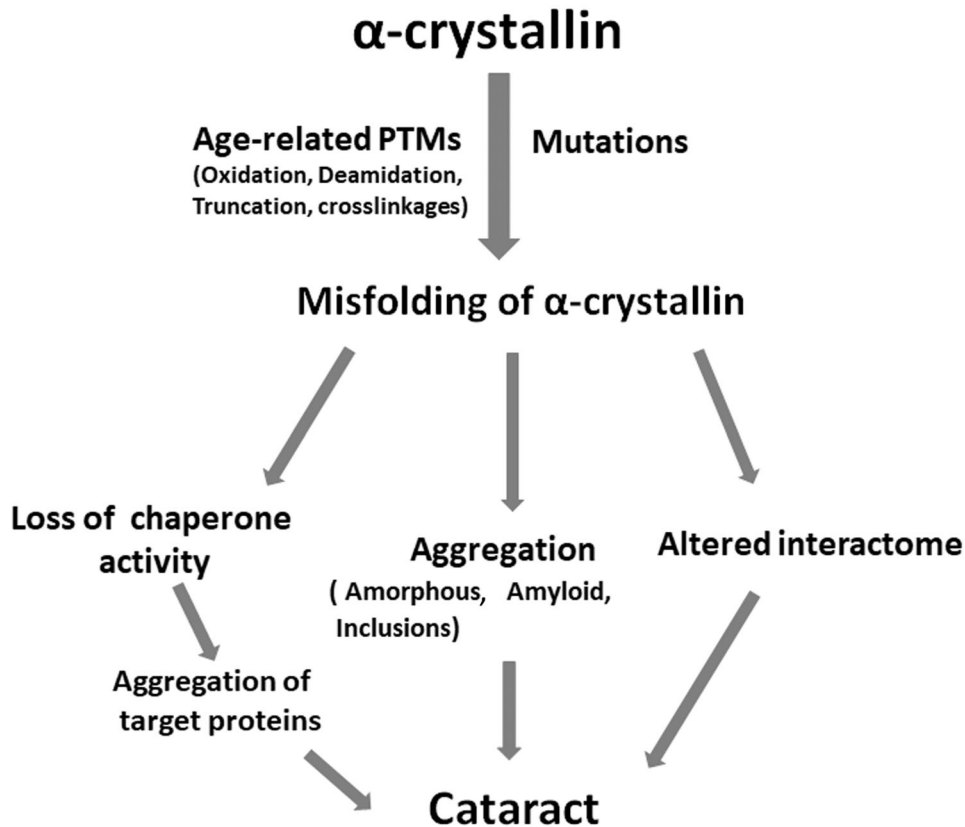
Существует два типа агрегации белка – аморфная и хорошо упорядоченная амилоидно-фибрилярная агрегация. Как было отмечено выше, амилоидные агрегаты были обнаружены в хрусталике глаза при катаракте. В исследованиях *in vitro* было показано, что кристаллины, включая α -кристаллин, образуют амилоидные агрегаты в денатурирующих условиях [147]. Возникает вопрос о том, могут ли при катаракте, кроме аморфной агрегации, также образовываться амилоиды? При агрегации белков действительно наблюдается конкуренция между аморфной и упорядоченной амилоидной агрегацией [148]. Изучение катаракт у мышей показало, что рекомбинантный мышинный мутантный белок $\gamma\text{B}^{\text{nop}}$ (усечённый белок, образованный в результате делеции 11 п.н. в третьем экзоне в позиции Ser138 и последующей вставки 4 п.н.) образовывал амилоидные фибриллы *in vitro* (в отличие от белка дикого типа) [149]. Анализ хрусталиков методом 2D-инфракрасной спектроскопии (2DIR) выявил амилоидные β -складчатые структуры в хрусталиках свиньи, облучённых УФ-излучением [7]. Аналогичные исследования хрусталиков человека при катаракте и без неё выявили присутствие амилоидной β -складчатой вторичной структуры в зрелых хрусталиках и при катаракте, в то время как в хрусталиках несовершеннолетних амилоидная структура отсутствовала [8]. Мутантная форма R120G α B-кристаллина *in vitro* образует амилоидные фибриллы более высокого порядка, чем белок дикого типа [150]. Недавнее исследование с использованием 2DIR-спектроскопии показало наличие амилоидоподобной структуры в хрусталиках мышей с нокаутом *Cryab*-R120G, что указывает на возможность образования α -кристаллином амилоидных агрегатов в условиях *in vivo* [9]. Было показано, что антитела против амилоидных олигомеров распознают агрегаты R120G α B-кристаллина в модели трансгенных мышей [137]. Эти исследования показывают, что как образование амилоида, так и аморфная агрегация могут иметь место во время развития

Таблица 4. Агрегаты, образуемые различными мутантными формами α A- и α B-кристаллинов

Мутантная форма	Морфология агрегатов (экспрессированы в бактериях/клеточных линиях)	Ссылки
R12L α A-кристаллин	большие цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[132]
R12C α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[132]
R21L α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[132]
R21W α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[132]
R49C α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa) ядерные спеклы в эпителиальных клетках хрусталика человека (HLE-B3)	[132] [89]
R54C α A-кристаллин	ядерные спеклы в эпителиальных клетках хрусталика человека (HLE-B3) ядерные агрегаты в эпителиальных клетках хрусталика человека (SRA 01/04)	[132] [133]
G98R α A-кристаллин	тельца включения при экспрессии в бактериальных клетках агрегаты в ЭР при экспрессии в эпителиальных клетках хрусталика человека (HLE-B3)	[126] [134]
R116C α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[132]
R116H α A-кристаллин	цитоплазматические агрегаты и агресомы (клетки HeLa)	[100]
p.116_118del α A-кристаллин	агрегаты в ядерной периферической мембране и ядре в эпителиальных клетках хрусталика человека (HLEpiCs)	[100]
R11H α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
P20S α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
D109G α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в скелетных и сердечных миоцитах	[111]
D109H α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
R120G α B-кристаллин	тельца включения (агресомы) в клетках РТК2, NIH-3T3 и CCL39 агрегаты агресомы в неонатальных кардиомиоцитах крысы цитоплазматические агрегаты в кардиомиоцитах и клетках COS-7 цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[136] [137] [62] [135]
D140N α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
Q151X α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в кардиомиоцитах и клетках COS-7 цитоплазматические агрегаты в клетках MCF7	[62] [138]
G154S α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
R157H α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
A171T α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках HeLa	[135]
343delT α B-кристаллин	тельца включения при экспрессии в бактериальных клетках цитоплазматические агрегаты в мышечных и не мышечных клетках	[135] [139]
450delA α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в клетках H9c2	[140]
464delCT α B-кристаллин	цитоплазматические агрегаты в кардиомиоцитах и клетках COS-7 цитоплазматические агрегаты в клетках H9c2 цитоплазматические агрегаты в клетках MCF7	[62] [140] [138]

катаракты. Поэтому было бы интересно понять механизмы агрегации α -кристаллинов *per se* и влияние вызывающих болезни мутаций на склонность кристаллинов к агрегации и на механизмы этого процесса.

Необходимы дальнейшие исследования, чтобы проанализировать механизмы агрегации α -кристаллина, индуцированные мутациями, способствующими возникновению болезней. Возможно, нарушение нативной структуры в



Роль возрастных модификаций и мутаций α -кристаллина в развитии катаракты

результате мутаций приводит к обнажению уже существующих областей, склонных к агрегации, которые в противном случае скрыты или замаскированы в складчатой структуре, поскольку эти области являются важными факторами, способствующими не только агрегации, но и неадекватным взаимодействиям α -кристаллина с компонентами клетки. Таким образом, исследования, включающие экспериментальные перекрёстные шивки для выявления белковых сегментов, участвующих в межмолекулярных взаимодействиях, изучение их изменений в результате мутаций, выявление нативных последовательностей/участков интерфейсов олигомеров и белковых фрагментов, образующихся в ходе процесса агрегации, будут способствовать нашему пониманию механизма агрегации α -кристаллина при формировании катаракты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования, проведённые в последние годы, показали, что α -кристаллин сохраняет кристаллическую природу и прозрачность хрусталиков глаза, участвуя в упаковке β -кристаллинов

и предотвращая их агрегацию. На рисунке показано как посттрансляционные модификации и мутации могут привести к развитию катаракты. Различные возрастные модификации и мутации α -кристаллина или нарушают структуру этих белков, или снижают их шаперонную функцию, что приводит к агрегации белков-мишеней, образованию агрегатов (амилоиды, аморфные структуры, включения) и изменению интерактома. Эти процессы могут протекать одновременно или независимо друг от друга, приводя к токсичности для клеток и развитию катаракты (рисунк). Мутации в α A-кристаллине часто приводят к развитию врождённых катаракт. Поскольку экспрессия α B-кристаллина происходит повсеместно, мутации α B-кристаллина могут привести не только к катаракте, но к и другим заболеваниям, таким как миопатии. Поэтому разработка стратегий предотвращения агрегации или образования включений из-за возрастных модификаций или мутаций имеет значение для лечения и профилактики катаракты и болезней, ассоциированных с агрегацией белков. Некоторые стереолы показали многообещающие эффекты в лечении катаракты у экспериментальных животных [151, 152]. Интересно, что пептиды, полу-

ченные из шаперонных участков α A- и α B-кристаллинов (так называемые мини-шапероны) проявляют терапевтический потенциал в отношении катаракты и других болезней, связанных с агрегацией белков [153]. Идентификация сегментов, которые участвуют в межмолекулярных взаимодействиях (как нативные интерфейсы олигомеров, так и области, опосредующие агрегацию), и выяснение эффектов мутаций на эти взаимодействия будут полезны при разработке

подходов к предотвращению возникновения и/или прогрессирования катаракты.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Chou, C. F., Cotch, M. F., Vitale, S., Zhang, X., Klein, R., et al. (2013) Age-related eye diseases and visual impairment among U.S. adults, *Am. J. Prev. Med.*, **45**, 29-35, doi: 10.1016/j.amepre.2013.02.018.
- Bloemendal, H., de Jong, W., Jaenicke, R., Lubsen, N. H., Slingsby, C., et al. (2004) Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **86**, 407-485, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2003.11.012.
- Delage, M., and Tardieu, A. (1983) Short-range order of crystallin proteins accounts for eye lens transparency, *Nature*, **302**, 415-417, doi: 10.1038/302415a0.
- Benedek, G. B. (1971) Theory of transparency of the eye, *Appl. Opt.*, **10**, 459-473, doi: 10.1364/AO.10.000459.
- Hanson, S. R., Hasan, A., Smith, D. L., and Smith, J. B. (2000) The major *in vivo* modifications of the human water-insoluble lens crystallins are disulfide bonds, deamidation, methionine oxidation and backbone cleavage, *Exp. Eye Res.*, **71**, 195-207, doi: 10.1006/exer.2000.0868.
- Harding, J. J. (2002) Viewing molecular mechanisms of ageing through a lens, *Ageing Res. Rev.*, **1**, 465-479, doi: 10.1016/s1568-1637(02)00012-0.
- Zhang, T. O., Alperstein, A. M., and Zanni, M. T. (2017) Amyloid beta-sheet secondary structure identified in UV-induced cataracts of porcine lenses using 2D IR spectroscopy, *J. Mol. Biol.*, **429**, 1705-1721, doi: 10.1016/j.jmb.2017.04.014.
- 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.
- Alperstein, A. M., Molnar, K. S., Dicke, S. S., Farrell, K. M., Makley, L. N., et al. (2021) Analysis of amyloid-like secondary structure in the Cryab-R120G knock-in mouse model of hereditary cataracts by two-dimensional infrared spectroscopy, *PLoS One*, **16**, e0257098, doi: 10.1371/journal.pone.0257098.
- Mörner, C. T. (1894) Untersuchung der Proteinsubstanzen in den leichtbrechenden Medien des Auges I [in German], *bchm*, **18**, 61-106, doi: 10.1515/bchm1.1894.18.1.61.
- Roy, D., and Spector, A. (1976) Absence of low-molecular-weight alpha crystallin in nuclear region of old human lenses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3484-3487, doi: 10.1073/pnas.73.10.3484.
- Horwitz, J., Bova, M. P., Ding, L. L., Haley, D. A., and Stewart, P. L. (1999) Lens alpha-crystallin: Function and structure, *Eye (Lond)*, **13 (Pt. 3b)**, 403-408, doi: 10.1038/eye.1999.114.
- Bakthisaran, R., Tangirala, R., and Rao, Ch. 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.
- Kappe, G., Franck, E., Verschuure, P., Boelens, W. C., Leunissen, J. A., et al. (2003) The human genome encodes 10 alpha-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.
- Ingolia, T. D., and Craig, E. A. (1982) Four small Drosophila heat shock proteins are related to each other and to mammalian alpha-crystallin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 2360-2364, doi: 10.1073/pnas.79.7.2360.
- Horwitz, J. (1992) Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10449-10453, doi: 10.1073/pnas.89.21.10449.
- Raman, B., and Rao, C. M. (1994) Chaperone-like activity and quaternary structure of alpha-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **269**, 27264-27268.
- Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C. M. (1995) Temperature dependent chaperone-like activity of alpha-crystallin, *FEBS Lett.*, **365**, 133-136, doi: 10.1016/0014-5793(95)00440-k.
- Rajaraman, K., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C. M. (1998) The chaperone-like alpha-crystallin forms a complex only with the aggregation-prone molten globule state of alpha-lactalbumin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **249**, 917-921, doi: 10.1006/bbrc.1998.9242.
- Raman, B., and Rao, C. M. (1997) Chaperone-like activity and temperature-induced structural changes of alpha-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **272**, 23559-23564, doi: 10.1074/jbc.272.38.23559.
- Datta, S. A., and Rao, C. M. (1999) Differential temperature-dependent chaperone-like activity of alphaA- and alphaB-crystallin homoaggregates, *J. Biol. Chem.*, **274**, 34773-34778, doi: 10.1074/jbc.274.49.34773.
- Rajaraman, K., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C. M. (2001) Interaction of human recombinant alphaA- and alphaB-crystallins with early and late unfolding intermediates of citrate synthase on its thermal denaturation, *FEBS Lett.*, **497**, 118-123, doi: 10.1016/s0014-5793(01)02451-6.
- Goenka, S., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C. M. (2001) Unfolding and refolding of a quinone oxidoreductase: alpha-crystallin, a molecular chaperone, assists its reactivation, *Biochem. J.*, **359**, 547-556, doi: 10.1042/0264-6021:3590547.
- Sathish, H. A., Koteiche, H. A., and McHaourab, H. S. (2004) Binding of destabilized betaB2-crystallin mutants to alpha-crystallin: the role of a folding intermediate, *J. Biol. Chem.*, **279**, 16425-16432, doi: 10.1074/jbc.M313402200.
- McHaourab, H. S., Dodson, E. K., and Koteiche, H. A. (2002) Mechanism of chaperone function in small heat shock proteins. Two-mode binding of the excited states of T4 lysozyme mutants by alphaA-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **277**, 40557-40566, doi: 10.1074/jbc.M206250200.

26. Koteiche, H. A., and McHaourab, H. S. (2003) Mechanism of chaperone function in small heat-shock proteins. Phosphorylation-induced activation of two-mode binding in alphaB-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **278**, 10361-10367, doi: 10.1074/jbc.M211851200.
27. Hatters, D. M., Lindner, R. A., Carver, J. A., and Howlett, G. J. (2001) The molecular chaperone, alpha-crystallin, inhibits amyloid formation by apolipoprotein C-II, *J. Biol. Chem.*, **276**, 33755-33761, doi: 10.1074/jbc.M105285200.
28. Devlin, G. L., Carver, J. A., and Bottomley, S. P. (2003) The selective inhibition of serpin aggregation by the molecular chaperone, alpha-crystallin, indicates a nucleation-dependent specificity, *J. Biol. Chem.*, **278**, 48644-48650, doi: 10.1074/jbc.M308376200.
29. Raman, B., Ban, T., Sakai, M., Pasta, S. Y., Ramakrishna, T., et al. (2005) AlphaB-crystallin, a small heat-shock protein, prevents the amyloid fibril growth of an amyloid beta-peptide and beta2-microglobulin, *Biochem. J.*, **392**, 573-581, doi: 10.1042/BJ20050339.
30. Shammass, S. L., Waudby, C. A., Wang, S., Buell, A. K., Knowles, T. P., et al. (2011) Binding of the molecular chaperone alphaB-crystallin to Abeta amyloid fibrils inhibits fibril elongation, *Biophys. J.*, **101**, 1681-1689, doi: 10.1016/j.bpj.2011.07.056.
31. Narayan, P., Meehan, S., Carver, J. A., Wilson, M. R., Dobson, C. M., et al. (2012) Amyloid-beta oligomers are sequestered by both intracellular and extracellular chaperones, *Biochemistry*, **51**, 9270-9276, doi: 10.1021/bi301277k.
32. Haslbeck, M., Peschek, J., Buchner, J., and Weinkauff, S. (2016) Structure and function of alpha-crystallins: Traversing from *in vitro* to *in vivo*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 149-166, doi: 10.1016/j.bbagen.2015.06.008.
33. Santhoshkumar, P., Murugesan, R., and Sharma, K. K. (2009) Deletion of (54)FLRAPSWF(61) residues decreases the oligomeric size and enhances the chaperone function of alphaB-crystallin, *Biochemistry*, **48**, 5066-5073, doi: 10.1021/bi900085v.
34. Pasta, S. Y., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, Ch. M. (2003) Role of the conserved SRLFDQFFG region of alpha-crystallin, a small heat shock protein. Effect on oligomeric size, subunit exchange, and chaperone-like activity, *J. Biol. Chem.*, **278**, 51159-51166, doi: 10.1074/jbc.M307523200.
35. Jehle, S., Vollmar, B. S., Bardiaux, B., Dove, K. K., Rajagopal, P., et al. (2011) N-terminal domain of alphaB-crystallin provides a conformational switch for multimerization and structural heterogeneity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 6409-6414, doi: 10.1073/pnas.1014656108.
36. Pasta, S. Y., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, Ch., M. (2002) Role of the C-terminal extensions of alpha-crystallins. Swapping the C-terminal extension of alpha-crystallin to alphaB-crystallin results in enhanced chaperone activity, *J. Biol. Chem.*, **277**, 45821-45828, doi: 10.1074/jbc.M206499200.
37. Treweek, T. M., Ecroyd, H., Williams, D. M., Meehan, S., Carver, J. A., and Walker, M. J. (2007) Site-directed mutations in the C-terminal extension of human alphaB-crystallin affect chaperone function and block amyloid fibril formation, *PLoS One*, **2**, e1046, doi: 10.1371/journal.pone.0001046.
38. Kumar, L. V., and Rao, C. M. (2000) Domain swapping in human alpha A and alpha B crystallins affects oligomerization and enhances chaperone-like activity, *J. Biol. Chem.*, **275**, 22009-22013, doi: 10.1074/jbc.M003307200.
39. Peschek, J., Braun, N., Franzmann, T. M., Georgalis, Y., Haslbeck, M., et al. (2009) The eye lens chaperone alpha-crystallin forms defined globular assemblies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 13272-13277, doi: 10.1073/pnas.0902651106.
40. Kaiser, C. J. O., Peters, C., Schmid, P. W. N., Stavropoulou, M., Zou, J., et al. (2019) The structure and oxidation of the eye lens chaperone alphaA-crystallin, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 1141-1150, doi: 10.1038/s41594-019-0332-9.
41. McCarty, C. A., and Taylor, H. R. (2002) A review of the epidemiologic evidence linking ultraviolet radiation and cataracts, *Dev. Ophthalmol.*, **35**, 21-31, doi: 10.1159/000060807.
42. Kamei, A. (1990) Characterization of water-insoluble proteins in normal and cataractous human lens, *Jpn. J. Ophthalmol.*, **34**, 216-224.
43. Harrington, V., McCall, S., Huynh, S., Srivastava, K., and Srivastava, O. P. (2004) Crystallins in water soluble-high molecular weight protein fractions and water insoluble protein fractions in aging and cataractous human lenses, *Mol. Vis.*, **10**, 476-489.
44. Sharma, K. K., and Santhoshkumar, P. (2009) Lens aging: Effects of crystallins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1790**, 1095-1108, doi: 10.1016/j.bbagen.2009.05.008.
45. Wilmarth, P. A., Tanner, S., Dasari, S., Nagalla, S. R., Riviere, M. A., et al. (2006) Age-related changes in human crystallins determined from comparative analysis of post-translational modifications in young and aged lens: Does deamidation contribute to crystallin insolubility? *J. Proteome Res.*, **5**, 2554-2566, doi: 10.1021/pr050473a.
46. Lapko, V. N., Smith, D. L., and Smith, J. B. (2001) *In vivo* carbamylation and acetylation of water-soluble human lens alphaB-crystallin lysine 92, *Protein Sci.*, **10**, 1130-1136, doi: 10.1110/ps.40901.
47. Taylor, H. R., West, S. K., Rosenthal, F. S., Munoz, B., Newland, H. S., et al. (1988) Effect of ultraviolet radiation on cataract formation, *N. Engl. J. Med.*, **319**, 1429-1433, doi: 10.1056/NEJM198812013192201.
48. Korlimbinis, A., Hains, P. G., Truscott, R. J., and Aquilina, J. A. (2006) 3-Hydroxykynurenine oxidizes alpha-crystallin: Potential role in cataractogenesis, *Biochemistry*, **45**, 1852-1860, doi: 10.1021/bi051737+.
49. Anbaraki, A., Ghahramani, M., Muranov, K. O., Kurganov, B. I., and Yousefi, R. (2018) Structural and functional alteration of human alphaA-crystallin after exposure to full spectrum solar radiation and preventive role of lens antioxidants, *Int. J. Biol. Macromol.*, **118**, 1120-1130, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.136.
50. Lin, S. Y., Ho, C. J., and Li, M. J. (1999) UV-B-induced secondary conformational changes in lens alpha-crystallin, *J. Photochem. Photobiol. B*, **49**, 29-34, doi: 10.1016/S1011-1344(99)00010-X.
51. Rajan, S., Horn, C., and Abraham, E. C. (2006) Effect of oxidation of alphaA- and alphaB-crystallins on their structure, oligomerization and chaperone function, *Mol. Cell. Biochem.*, **288**, 125-134, doi: 10.1007/s11010-006-9128-4.
52. Chaves, J. M., Srivastava, K., Gupta, R., and Srivastava, O. P. (2008) Structural and functional roles of deamidation and/or truncation of N- or C-termini in human alpha A-crystallin, *Biochemistry*, **47**, 10069-10083, doi: 10.1021/bi8001902.
53. Gupta, R., and Srivastava, O. P. (2004) Deamidation affects structural and functional properties of human alphaA-crystallin and its oligomerization with alphaB-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **279**, 44258-44269, doi: 10.1074/jbc.M405648200.
54. Gupta, R., and Srivastava, O. P. (2004) Effect of deamidation of asparagine 146 on functional and structural properties of human lens alphaB-crystallin, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **45**, 206-214, doi: 10.1167/iovs.03-0720.
55. Grey, A. C., and Schey, K. L. (2009) Age-related changes in the spatial distribution of human lens alpha-crystallin products by MALDI imaging mass spectrometry, *Invest.*

- Ophthalmol. Vis. Sci.*, **50**, 4319-4329, doi: 10.1167/iovs.09-3522.
56. MacCoss, M. J., McDonald, W. H., Saraf, A., Sadygov, R., Clark, J. M., et al. (2002) Shotgun identification of protein modifications from protein complexes and lens tissue, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 7900-7905, doi: 10.1073/pnas.122231399.
 57. Huang, C. H., Wang, Y. T., Tsai, C. F., Chen, Y. J., Lee, J. S., et al. (2011) Phosphoproteomics characterization of novel phosphorylated sites of lens proteins from normal and cataractous human eye lenses, *Mol. Vis.*, **17**, 186-198.
 58. Bakthisaran, R., Akula, K. K., Tangirala, R., and Rao, Ch., M. (2016) Phosphorylation of alphaB-crystallin: Role in stress, aging and patho-physiological conditions, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 167-182, doi: 10.1016/j.bbagen.2015.09.017.
 59. Muranova, L. K., Sudnitsyna, M. V., and Gusev, N. B. (2018) AlphaB-crystallin phosphorylation: advances and problems, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1196-1206, doi: 10.1134/S000629791810005X.
 60. Carver, J. A., Nicholls, K. A., Aquilina, J. A., and Truscott, R. J. (1996) Age-related changes in bovine alpha-crystallin and high-molecular-weight protein, *Exp. Eye Res.*, **63**, 639-647, doi: 10.1006/exer.1996.0158.
 61. Den Engelsman, J., Gerrits, D., de Jong, W. W., Robbins, J., Kato, K., et al. (2005) Nuclear import of {alpha}B-crystallin is phosphorylation-dependent and hampered by hyperphosphorylation of the myopathy-related mutant R120G, *J. Biol. Chem.*, **280**, 37139-37148, doi: 10.1074/jbc.M504106200.
 62. Simon, S., Fontaine, J. M., Martin, J. L., Sun, X., Hoppe, A. D., et al. (2007) Myopathy-associated alphaB-crystallin mutants: Abnormal phosphorylation, intracellular location, and interactions with other small heat shock proteins, *J. Biol. Chem.*, **282**, 34276-34287, doi: 10.1074/jbc.M703267200.
 63. Lyon, Y. A., Sabbah, G. M., and Julian, R. R. (2018) Differences in alpha-Crystallin isomerization reveal the activity of protein isoaspartyl methyltransferase (PIMT) in the nucleus and cortex of human lenses, *Exp. Eye Res.*, **171**, 131-141, doi: 10.1016/j.exer.2018.03.018.
 64. Takata, T., and Fujii, N. (2016) Isomerization of Asp residues plays an important role in alphaA-crystallin dissociation, *FEBS J.*, **283**, 850-859, doi: 10.1111/febs.13635.
 65. Hooi, M. Y., Raftery, M. J., and Truscott, R. J. (2013) Age-dependent racemization of serine residues in a human chaperone protein, *Protein Sci.*, **22**, 93-100, doi: 10.1002/pro.2191.
 66. Lyon, Y. A., Collier, M. P., Riggs, D. L., Degiacomi, M. T., Benesch, J. L. P., et al. (2019) Structural and functional consequences of age-related isomerization in alpha-crystallins, *J. Biol. Chem.*, **294**, 7546-7555, doi: 10.1074/jbc.RA118.007052.
 67. Lyons, T. J., Silvestri, G., Dunn, J. A., Dyer, D. G., and Baynes, J. W. (1991) Role of glycation in modification of lens crystallins in diabetic and nondiabetic senile cataracts, *Diabetes*, **40**, 1010-1015, doi: 10.2337/diab.40.8.1010.
 68. Thorpe, S. R., and Baynes, J. W. (1996) Role of the Maillard reaction in diabetes mellitus and diseases of aging, *Drugs Aging*, **9**, 69-77, doi: 10.2165/00002512-199609020-00001.
 69. Stevens, V. J., Rouzer, C. A., Monnier, V. M., and Cerami, A. (1978) Diabetic cataract formation: Potential role of glycosylation of lens crystallins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 2918-2922, doi: 10.1073/pnas.75.6.2918.
 70. Kumar, P. A., Kumar, M. S., and Reddy, G. B. (2007) Effect of glycation on alpha-crystallin structure and chaperone-like function, *Biochem. J.*, **408**, 251-258, doi: 10.1042/BJ20070989.
 71. Schey, K. L., Wang, Z., Friedrich, M. G., Garland, D. L., and Truscott, R. J. W. (2020) Spatiotemporal changes in the human lens proteome: Critical insights into long-lived proteins, *Prog. Retin. Eye Res.*, **76**, 100802, doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.100802.
 72. Kamei, A., Iwase, H., and Masuda, K. (1997) Cleavage of amino acid residue(s) from the N-terminal region of alpha A- and alpha B-crystallins in human crystalline lens during aging, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **231**, 373-378, doi: 10.1006/bbrc.1997.6105.
 73. Jimenez-Asensio, J., Colvis, C. M., Kowalak, J. A., Duglas-Tabor, Y., Datiles, M. B., et al. (1999) An atypical form of alphaB-crystallin is present in high concentration in some human cataractous lenses. Identification and characterization of aberrant N- and C-terminal processing, *J. Biol. Chem.*, **274**, 32287-32294, doi: 10.1074/jbc.274.45.32287.
 74. Takemoto, L., Emmons, T., and Horwitz, J. (1993) The C-terminal region of alpha-crystallin: involvement in protection against heat-induced denaturation, *Biochem. J.*, **294** (Pt. 2), 435-438, doi: 10.1042/bj2940435.
 75. Santhoshkumar, P., Udupa, P., Murugesan, R., and Sharma, K. K. (2008) Significance of interactions of low molecular weight crystallin fragments in lens aging and cataract formation, *J. Biol. Chem.*, **283**, 8477-8485, doi: 10.1074/jbc.M705876200.
 76. Su, S. P., McArthur, J. D., and Andrew Aquilina, J. (2010) Localization of low molecular weight crystallin peptides in the aging human lens using a MALDI mass spectrometry imaging approach, *Exp. Eye Res.*, **91**, 97-103, doi: 10.1016/j.exer.2010.04.010.
 77. Kannan, R., Santhoshkumar, P., Mooney, B. P., and Sharma, K. K. (2013) The alphaA66-80 peptide interacts with soluble alpha-crystallin and induces its aggregation and precipitation: a contribution to age-related cataract formation, *Biochemistry*, **52**, 3638-3650, doi: 10.1021/bi301662w.
 78. Raju, M., Santhoshkumar, P., and Sharma, K. K. (2017) Lens endogenous peptide alphaA66-80 generates hydrogen peroxide and induces cell apoptosis, *Aging Dis.*, **8**, 57-70, doi: 10.14336/AD.2016.0805.
 79. Nagaraj, R. H., Nahomi, R. B., Shanthakumar, S., Linetsky, M., Padmanabha, S., et al. (2012) Acetylation of alphaA-crystallin in the human lens: effects on structure and chaperone function, *Biochim. Biophys. Acta*, **1822**, 120-129, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.11.011.
 80. Wang, Z., Friedrich, M. G., Truscott, R. J. W., and Schey, K. L. (2019) Cleavage C-terminal to Asp leads to covalent crosslinking of long-lived human proteins, *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.*, **1867**, 831-839, doi: 10.1016/j.bbapap.2019.06.009.
 81. Litt, M., Kramer, P., LaMorticella, D. M., Murphey, W., Lovrien, E. W., and et al. (1998) Autosomal dominant congenital cataract associated with a missense mutation in the human alpha crystallin gene CRYAA, *Hum. Mol. Genet.*, **7**, 471-474, doi: 10.1093/hmg/7.3.471.
 82. Pras, E., Frydman, M., Levy-Nissenbaum, E., Bakhan, T., Raz, J., et al. (2000) A nonsense mutation (W9X) in CRYAA causes autosomal recessive cataract in an inbred Jewish Persian family, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **41**, 3511-3515.
 83. Hansen, L., Yao, W., Eiberg, H., Kjaer, K. W., Baggesen, K., et al. (2007) Genetic heterogeneity in microcornea-cataract: five novel mutations in CRYAA, CRYGD, and GJA8, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **48**, 3937-3944, doi: 10.1167/iovs.07-0013.
 84. Devi, R. R., Yao, W., Vijayalakshmi, P., Sergeev, Y. V., Sundaresan, P., et al. (2008) Crystallin gene mutations in Indian families with inherited pediatric cataract, *Mol. Vis.*, **14**, 1157-1170.

85. Song, Z., Si, N., and Xiao, W. (2018) A novel mutation in the CRYAA gene associated with congenital cataract and microphthalmia in a Chinese family, *BMC Med. Genet.*, **19**, 190, doi: 10.1186/s12881-018-0695-5.
86. Graw, J., Klopp, N., Illig, T., Preising, M. N., and Lorenz, B. (2006) Congenital cataract and macular hypoplasia in humans associated with a de novo mutation in CRYAA and compound heterozygous mutations in P, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **244**, 912-919, doi: 10.1007/s00417-005-0234-x.
87. Hansen, L., Mikkelsen, A., Nurnberg, P., Nurnberg, G., Anjum, I., et al. (2009) Comprehensive mutational screening in a cohort of Danish families with hereditary congenital cataract, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **50**, 3291-3303, doi: 10.1167/iovs.08-3149.
88. Laurie, K. J., Dave, A., Straga, T., Souzeau, E., Chataway, T., et al. (2013) Identification of a novel oligomerization disrupting mutation in CRYAlphaA associated with congenital cataract in a South Australian family, *Hum. Mutat.*, **34**, 435-438, doi: 10.1002/humu.22260.
89. Mackay, D. S., Andley, U. P., and Shiels, A. (2003) Cell death triggered by a novel mutation in the alphaA-crystallin gene underlies autosomal dominant cataract linked to chromosome 21q, *Eur. J. Hum. Genet.*, **11**, 784-793, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201046.
90. Khan, A. O., Aldahmesh, M. A., and Meyer, B. (2007) Recessive congenital total cataract with microcornea and heterozygote carrier signs caused by a novel missense CRYAA mutation (R54C), *Am. J. Ophthalmol.*, **144**, 949-952, doi: 10.1016/j.ajo.2007.08.005.
91. Su, D., Guo, Y., Li, Q., Guan, L., Zhu, S., et al. (2012) A novel mutation in CRYAA is associated with autosomal dominant suture cataracts in a Chinese family, *Mol. Vis.*, **18**, 3057-3063.
92. Yang, Z., Su, D., Li, Q., Ma, Z., Yang, F., et al. (2013) A R54L mutation of CRYAA associated with autosomal dominant nuclear cataracts in a Chinese family, *Curr. Eye Res.*, **38**, 1221-1228, doi: 10.3109/02713683.2013.811260.
93. Patel, R., Zenith, R. K., Chandra, A., and Ali, A. (2017) Novel mutations in the crystallin gene in age-related cataract patients from a North Indian population, *Mol. Syndromol.*, **8**, 179-186, doi: 10.1159/000471992.
94. Bhagyalaxmi, S. G., Srinivas, P., Barton, K. A., Kumar, K. R., Vidyavathi, M., et al. (2009) A novel mutation (F71L) in alphaA-crystallin with defective chaperone-like function associated with age-related cataract, *Biochim. Biophys. Acta*, **1792**, 974-981, doi: 10.1016/j.bbdis.2009.06.011.
95. Santhiya, S. T., Soker, T., Klopp, N., Illig, T., Prakash, M. V., et al. (2006) Identification of a novel, putative cataract-causing allele in CRYAA (G98R) in an Indian family, *Mol. Vis.*, **12**, 768-773.
96. Vanita, V., Singh, J. R., Hejtmancik, J. F., Nuernberg, P., Hennies, H. C., et al. (2006) A novel fan-shaped cataract-microcornea syndrome caused by a mutation of CRYAA in an Indian family, *Mol. Vis.*, **12**, 518-522.
97. Li, F. F., Yang, M., Ma, X., Zhang, Q., Zhang, M., et al. (2010) Autosomal dominant congenital nuclear cataracts caused by a CRYAA gene mutation, *Curr. Eye Res.*, **35**, 492-498, doi: 10.3109/02713681003624901.
98. Gu, F., Luo, W., Li, X., Wang, Z., Lu, S., et al. (2008) A novel mutation in AlphaA-crystallin (CRYAA) caused autosomal dominant congenital cataract in a large Chinese family, *Hum. Mutat.*, **29**, 769, doi: 10.1002/humu.20724.
99. Richter, L., Flodman, P., Barria von-Bischhoffshausen, F., Burch, D., Brown, S., et al. (2008) Clinical variability of autosomal dominant cataract, microcornea and corneal opacity and novel mutation in the alpha A crystallin gene (CRYAA), *Am. J. Med. Genet. A*, **146A**, 833-842, doi: 10.1002/ajmg.a.32236.
100. Li, L., Fan, D. B., Zhao, Y. T., Li, Y., Kong, D. Q., et al. (2017) Two novel mutations identified in ADCC families impair crystallin protein distribution and induce apoptosis in human lens epithelial cells, *Sci. Rep.*, **7**, 17848, doi: 10.1038/s41598-017-18222-z.
101. Sun, W., Xiao, X., Li, S., Guo, X., and Zhang, Q. (2011) Mutation analysis of 12 genes in Chinese families with congenital cataracts, *Mol. Vis.*, **17**, 2197-2206.
102. Kong, X. D., Liu, N., Shi, H. R., Dong, J. M., Zhao, Z. H., et al. (2015) A novel 3-base pair deletion of the CRYAA gene identified in a large Chinese pedigree featuring autosomal dominant congenital perinuclear cataract, *Genet. Mol. Res.*, **14**, 426-432, doi: 10.4238/2015.
103. Berry, V., Ionides, A., Pontikos, N., Georgiou, M., Yu, J., et al. (2020) The genetic landscape of crystallins in congenital cataract, *Orphanet. J. Rare Dis.*, **15**, 333, doi: 10.1186/s13023-020-01613-3.
104. Chen, Q., Ma, J., Yan, M., Mothobi, M. E., Liu, Y., et al. (2009) A novel mutation in CRYAB associated with autosomal dominant congenital nuclear cataract in a Chinese family, *Mol. Vis.*, **15**, 1359-1365.
105. Jiao, X., Khan, S. Y., Irum, B., Khan, A. O., Wang, Q., et al. (2015) Missense mutations in CRYAB are liable for recessive congenital cataracts, *PLoS One*, **10**, e0137973, doi: 10.1371/journal.pone.0137973.
106. Liu, M., Ke, T., Wang, Z., Yang, Q., Chang, W., et al. (2006) Identification of a CRYAB mutation associated with autosomal dominant posterior polar cataract in a Chinese family, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **47**, 3461-3466, doi: 10.1167/iovs.05-1438.
107. Xia, X. Y., Wu, Q. Y., An, L. M., Li, W. W., Li, N., et al. (2014) A novel P20R mutation in the alpha-B crystallin gene causes autosomal dominant congenital posterior polar cataracts in a Chinese family, *BMC Ophthalmol.*, **14**, 108, doi: 10.1186/1471-2415-14-108.
108. Del Bigio, M. R., Chudley, A. E., Sarnat, H. B., Campbell, C., Goobie, S., et al. (2011) Infantile muscular dystrophy in Canadian aboriginals is an alphaB-crystallinopathy, *Ann. Neurol.*, **69**, 866-871, doi: 10.1002/ana.22331.
109. Khan, A. O., Abu Safieh, L., and Alkuraya, F. S. (2010) Later retinal degeneration following childhood surgical aphakia in a family with recessive CRYAB mutation (p.R56W), *Ophthalmic Genet.*, **31**, 30-36, doi: 10.3109/13816810903452047.
110. Fichna, J. P., Potulska-Chromik, A., Miszta, P., Redowicz, M. J., Kaminska, A. M., et al. (2017) A novel dominant D109A CRYAB mutation in a family with myofibrillar myopathy affects alphaB-crystallin structure, *BBA Clin.*, **7**, 1-7, doi: 10.1016/j.bbacli.2016.11.004.
111. Brodehl, A., Gaertner-Rommel, A., Klauke, B., Grewe, S. A., Schirmer, I., et al. (2017) The novel alphaB-crystallin (CRYAB) mutation p.D109G causes restrictive cardiomyopathy, *Hum. Mutat.*, **38**, 947-952, doi: 10.1002/humu.23248.
112. Sacconi, S., Feasson, L., Antoine, J. C., Pecheux, C., Bernard, R., et al. (2012) A novel CRYAB mutation resulting in multisystemic disease, *Neuromuscul. Disord.*, **22**, 66-72, doi: 10.1016/j.nmd.2011.07.004.
113. Vicart, P., Caron, A., Guicheney, P., Li, Z., Prevost, M. C., et al. (1998) A missense mutation in the alphaB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy, *Nat. Genet.*, **20**, 92-95, doi: 10.1038/1765.
114. Liu, Y., Zhang, X., Luo, L., Wu, M., Zeng, R., et al. (2006) A novel alphaB-crystallin mutation associated with autosomal dominant congenital lamellar cataract, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **47**, 1069-1075, doi: 10.1167/iovs.05-1004.

115. Selcen, D., and Engel, A. G. (2003) Myofibrillar myopathy caused by novel dominant negative alpha B-crystallin mutations, *Ann. Neurol.*, **54**, 804-810, doi: 10.1002/ana.10767.
116. Reilich, P., Schoser, B., Schramm, N., Krause, S., Schessl, J., et al. (2010) The p. G154S mutation of the alpha-B crystallin gene (CRYAB) causes late-onset distal myopathy, *Neuromuscul. Disord.*, **20**, 255-259, doi: 10.1016/j.nmd.2010.01.012.
117. Inagaki, N., Hayashi, T., Arimura, T., Koga, Y., Takahashi, M., et al. (2006) Alpha B-crystallin mutation in dilated cardiomyopathy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **342**, 379-386, doi: 10.1016/j.bbrc.2006.01.154.
118. Berry, V., Francis, P., Reddy, M. A., Collyer, D., Vithana, E., et al. (2001) Alpha-B crystallin gene (CRYAB) mutation causes dominant congenital posterior polar cataract in humans, *Am. J. Hum. Genet.*, **69**, 1141-1145, doi: 10.1086/324158.
119. Forrest, K. M., Al-Sarraj, S., Sewry, C., Buk, S., Tan, S. V., et al. (2011) Infantile onset myofibrillar myopathy due to recessive CRYAB mutations, *Neuromuscul. Disord.*, **21**, 37-40, doi: 10.1016/j.nmd.2010.11.003.
120. Marcos, A. T., Amoros, D., Munoz-Cabello, B., Galan, F., Rivas Infante, E., et al. (2020) A novel dominant mutation in CRYAB gene leading to a severe phenotype with childhood onset, *Mol. Genet. Genomic Med.*, **8**, e1290, doi: 10.1002/mgg3.1290.
121. Van der Smagt, J. J., Vink, A., Kirkels, J. H., Nelen, M., ter Heide, H., et al. (2014) Congenital posterior pole cataract and adult onset dilating cardiomyopathy: Expanding the phenotype of alphaB-crystallinopathies, *Clin. Genet.*, **85**, 381-385, doi: 10.1111/cge.12169.
122. Yu, Y., Xu, J., Qiao, Y., Li, J., and Yao, K. (2021) A new heterozygous mutation in the stop codon of CRYAB (p. X176Y) is liable for congenital posterior pole cataract in a Chinese family, *Ophthalmic Genet.*, **42**, 139-143, doi: 10.1080/13816810.2020.1855665.
123. Muranova, L. K., Strelkov, S. V., and Gusev, N. B. (2020) Effect of cataract-associated mutations in the N-terminal domain of alphaB-crystallin (HspB5), *Exp. Eye Res.*, **197**, 108091, doi: 10.1016/j.exer.2020.108091.
124. Cobb, B. A., and Petrash, J. M. (2000) Structural and functional changes in the alpha A-crystallin R116C mutant in hereditary cataracts, *Biochemistry*, **39**, 15791-15798, doi: 10.1021/bi001453j.
125. Kumar, L. V., Ramakrishna, T., and Rao, C. M. (1999) Structural and functional consequences of the mutation of a conserved arginine residue in alphaA and alphaB crystallins, *J. Biol. Chem.*, **274**, 24137-24141, doi: 10.1074/jbc.274.34.24137.
126. Singh, D., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, Ch. M. (2006) The cataract-causing mutation G98R in human alphaA-crystallin leads to folding defects and loss of chaperone activity, *Mol. Vis.*, **12**, 1372-1379.
127. Bova, M. P., Yaron, O., Huang, Q., Ding, L., Haley, D. A., et al. (1999) Mutation R120G in alphaB-crystallin, which is linked to a desmin-related myopathy, results in an irregular structure and defective chaperone-like function, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6137-6142, doi: 10.1073/pnas.96.11.6137.
128. Perng, M. D., Wen, S. F., van IJssel, P., Prescott, A. R., and Quinlan, R. A. (2004) Desmin aggregate formation by R120G alphaB-crystallin is caused by altered filament interactions and is dependent upon network status in cells, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 2335-2346, doi: 10.1091/mbc.e03-12-0893.
129. Ghahramani, M., Yousefi, R., Krivandin, A., Muranov, K., Kurganov, B., et al. (2020) Structural and functional characterization of D109H and R69C mutant versions of human alphaB-crystallin: The biochemical pathomechanism underlying cataract and myopathy development, *Int. J. Biol. Macromol.*, **146**, 1142-1160, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.239.
130. 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.
131. Gerasimovich, E. S., Strelkov, S. V., and Gusev, N. B. (2017) Some properties of three alphaB-crystallin mutants carrying point substitutions in the C-terminal domain and associated with congenital diseases, *Biochimie*, **142**, 168-178, doi: 10.1016/j.biochi.2017.09.008.
132. Raju, I., and Abraham, E. C. (2011) Congenital cataract causing mutants of alphaA-crystallin/sHSP form aggregates and aggresomes degraded through ubiquitin-proteasome pathway, *PLoS One*, **6**, e28085, doi: 10.1371/journal.pone.0028085.
133. Ahsan, S. M., Bakthisaran, R., Tangirala, R., and Rao, C. M. (2021) Nucleosomal association and altered interactions underlie the mechanism of cataract caused by the R54C mutation of alphaA-crystallin, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1865**, 129846, doi: 10.1016/j.bbagen.2021.129846.
134. Gong, B., Zhang, L. Y., Pang, C. P., Lam, D. S., and Yam, G. H. (2009) Trimethylamine N-oxide alleviates the severe aggregation and ER stress caused by G98R alphaA-crystallin, *Mol. Vis.*, **15**, 2829-2840.
135. Raju, I., and Abraham, E. C. (2013) Mutants of human alphaB-crystallin cause enhanced protein aggregation and apoptosis in mammalian cells: Influence of co-expression of HspB1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **430**, 107-112, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.11.051.
136. Chavez Zobel, A. T., Loranger, A., Marceau, N., Theriault, J. R., Lambert, H., et al. (2003) Distinct chaperone mechanisms can delay the formation of aggresomes by the myopathy-causing R120G alphaB-crystallin mutant, *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 1609-1620, doi: 10.1093/hmg/ddg173.
137. Sanbe, A., Osinska, H., Saffitz, J. E., Glabe, C. G., Kaye, R., et al. (2004) Desmin-related cardiomyopathy in transgenic mice: a cardiac amyloidosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10132-10136, doi: 10.1073/pnas.0401900101.
138. Hayes, V. H., Devlin, G., and Quinlan, R. A. (2008) Truncation of alphaB-crystallin by the myopathy-causing Q151X mutation significantly destabilizes the protein leading to aggregate formation in transfected cells, *J. Biol. Chem.*, **283**, 10500-10512, doi: 10.1074/jbc.M706453200.
139. Mitzelfelt, K. A., Limphong, P., Choi, M. J., Kondrat, F. D., Lai, S., et al. (2016) The human 343delT HSPB5 chaperone associated with early-onset skeletal myopathy causes defects in protein solubility, *J. Biol. Chem.*, **291**, 14939-14953, doi: 10.1074/jbc.M116.730481.
140. Zhang, H., Rajasekaran, N. S., Orosz, A., Xiao, X., Rechsteiner, M., et al. (2010) Selective degradation of aggregate-prone CryAB mutants by HSPB1 is mediated by ubiquitin-proteasome pathways, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **49**, 918-930, doi: 10.1016/j.yjmcc.2010.09.004.
141. Andley, U. P., Hamilton, P. D., and Ravi, N. (2008) Mechanism of insolubilization by a single-point mutation in alphaA-crystallin linked with hereditary human cataracts, *Biochemistry*, **47**, 9697-9706, doi: 10.1021/bi800594t.
142. Kore, R., Hedges, R. A., Oonthonpan, L., Santhoshkumar, P., Sharma, K. K., et al. (2012) Quaternary structural parameters of the congenital cataract causing mutants of alphaA-crystallin, *Mol. Cell Biochem.*, **362**, 93-102, doi: 10.1007/s11010-011-1131-8.

143. Khoshaman, K., Yousefi, R., Tamaddon, A. M., Abolmaali, S. S., Oryan, A., et al. (2017) The impact of different mutations at Arg54 on structure, chaperone-like activity and oligomerization state of human alphaA-crystallin: the pathomechanism underlying congenital cataract-causing mutations R54L, R54P and R54C, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.*, **1865**, 604-618, doi: 10.1016/j.bbapap.2017.02.003.
144. Murugesan, R., Santhoshkumar, P., and Sharma, K. K. (2007) Cataract-causing alphaAG98R mutant shows substrate-dependent chaperone activity, *Mol. Vis.*, **13**, 2301-2309.
145. Singh, D., Tangirala, R., Bakthisaran, R., and Chintalagiri, M. R. (2009) Synergistic effects of metal ion and the pre-senile cataract-causing G98R alphaA-crystallin: Self-aggregation propensities and chaperone activity, *Mol. Vis.*, **15**, 2050-2060.
146. Wang, X., Osinska, H., Klevitsky, R., Gerdes, A. M., Nieman, M., et al. (2001) Expression of R120G-alphaB-crystallin causes aberrant desmin and alphaB-crystallin aggregation and cardiomyopathy in mice, *Circ. Res.*, **89**, 84-91, doi: 10.1161/hh1301.092688.
147. Meehan, S., Berry, Y., Luisi, B., Dobson, C. M., Carver, J. A., et al. (2004) Amyloid fibril formation by lens crystallin proteins and its implications for cataract formation, *J. Biol. Chem.*, **279**, 3413-3419, doi: 10.1074/jbc.M308203200.
148. Lee, C. F. (2009) Self-assembly of protein amyloids: a competition between amorphous and ordered aggregation, *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.*, **80**, 031922, doi: 10.1103/PhysRevE.80.031922.
149. Sandilands, A., Hutcheson, A. M., Long, H. A., Prescott, A. R., Vrensen, G., et al. (2002) Altered aggregation properties of mutant gamma-crystallins cause inherited cataract, *EMBO J.*, **21**, 6005-6014, doi: 10.1093/emboj/cdf609.
150. Meehan, S., Knowles, T. P., Baldwin, A. J., Smith, J. F., Squires, A. M., et al. (2007) Characterisation of amyloid fibril formation by small heat-shock chaperone proteins human alphaA-, alphaB- and R120G alphaB-crystallins, *J. Mol. Biol.*, **372**, 470-484, doi: 10.1016/j.jmb.2007.06.060.
151. Makley, L. N., McMenimen, K. A., DeVree, B. T., Goldman, J. W., McGlasson, B. N., et al. (2015) Pharmacological chaperone for alpha-crystallin partially restores transparency in cataract models, *Science*, **350**, 674-677, doi: 10.1126/science.aac9145.
152. Zhao, L., Chen, X. J., Zhu, J., Xi, Y. B., Yang, X., et al. (2015) Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts, *Nature*, **523**, 607-611, doi: 10.1038/nature14650.
153. Raju, M., Santhoshkumar, P., and Sharma, K. (2016) Alpha-crystallin-derived peptides as therapeutic chaperones, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 246-251, doi: 10.1016/j.bbagen.2015.06.010.

PROTEIN AGGREGATION AND CATARACT: ROLE OF AGE-RELATED MODIFICATIONS AND MUTATIONS IN α -CRYSTALLINS*

Review

P. Budnar, R. Tangirala, R. Bakthisaran, and Ch. M. Rao**

*Centre for Cellular and Molecular Biology (CCMB), Council of Scientific and Industrial Research (CSIR),
Uppal Road, Hyderabad 500007, India; e-mail: mohan@ccmb.res.in; mohan.ccmb@gmail.com*

Cataract is a major cause of blindness. Due to the lack of protein turnover, lens proteins accumulate age-related and environmental modifications that alter their native conformation, leading to the formation of aggregation-prone intermediates, as well as insoluble and light-scattering aggregates, thus compromising lens transparency. The lens protein, α -crystallin, is a molecular chaperone that prevents protein aggregation, thereby maintaining lens transparency. However, mutations or post-translational modifications, such as oxidation, deamidation, truncation and crosslinking, can render α -crystallins ineffective and lead to the disease exacerbation. Here, we describe such mutations and alterations, as well as their consequences. Age-related modifications in α -crystallins affect their structure, oligomerization, and chaperone function. Mutations in α -crystallins can lead to the aggregation/intracellular inclusions attributable to the perturbation of structure and oligomeric assembly and resulting in the rearrangement of aggregation-prone regions. Such rearrangements can lead to the exposure of hitherto buried aggregation-prone regions, thereby populating aggregation-prone state(s) and facilitating amorphous/amyloid aggregation and/or inappropriate interactions with cellular components. Investigations of the mutation-induced changes in the structure, oligomer assembly, aggregation mechanisms, and interactomes of α -crystallins will be useful in fighting protein aggregation-related diseases.

Keywords: cataract, aggregation, α -crystallin