

БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА В КАЧЕСТВЕ МЕХАНИЗМА КЛЕТОЧНОЙ ЗАЩИТЫ

Д.Д. Жданов, В.С. Орлова

Экологический факультет, Российский университет дружбы народов,
Подольское ш., 8/5, 113093, Москва, Россия

В статье рассматривается роль белков теплового шока в живых клетках при отсутствии стресса, а также механизм их действия в качестве естественной защиты клеток организма в период действия вредных условий. Показаны основные механизмы регуляции экспрессии генов белков теплового шока.

Введение. Главной задачей живых клеток является выживание. Для выживания клетки в период воздействия вредных условий вовлекаются несколько механизмов. Одним из наиболее действенных и древних в эволюции механизмов клеточной защиты является синтез группы белков, называемой белки теплового шока (*HSP – heat shock proteins*)? или стресс белки. Таким образом, клетки, которые подвергаются стрессу посредством повреждения средней тяжести, вызывающего продукцию HSP, являются более устойчивыми к дальнейшим экстремальным условиям. Эта защита от последующих смертельных стрессов была названа «стрессовой устойчивостью». Точные механизмы, обеспечивающие стрессовую устойчивость, остаются неизвестными. Ренатурация белков, поврежденных во время стресса, является неотъемлемым компонентом стрессовой устойчивости [2].

Функции и механизм действия HSP. Семейство HSP состоит из ряда белков различной молекулярной массы, некоторые из которых синтезируются в условиях отсутствия стресса. Конститутивные HSP участвуют в фолдинге и транслокации полипептидов через мембрану. Вот почему они были названы «молекулярными шаперонами». Функция молекулярных шаперонов во время нормальных условий позволяет нам сделать вывод о возможной роли HSP во время стресса [11].

Впервые HSP были обнаружены у *Drosophila melanogaster* после инкубации в условиях повышенной температуры. Поэтому синтез этих белков первоначально считался температурно-зависимым процессом. С тех пор было идентифицировано большое количество HSP, к тому же были идентифицированы белки, обладающие активностью подобной шаперонной [2].

Наиболее изученным представителем семейства HSP является HSP70.

HSP70 содержит два главных домена: АТФ-связывающий сайт на N-конце и пептид-связывающую область на С-конце молекулы. АТФ-связывающий сайт, который ассоциирован со слабой АТФ-азной активностью, является наиболее консервативной областью различных БТШ70, так же как и БТШ70 у различных видов. Кроме того, HSP70 имеют высокую степень сродства к гидрофобным пептидам, и это сродство увеличивается после гидролиза АТФ. На основании этих характеристик, был предложен следующий механизм: HSP70 взаимодействует с гидрофобными частями белков и обретает АТФ-азную активность. Сродство к пептидным лигандам возрастает при гидролизе АТФ до АДФ, увеличивая время HSP70-полипептидного взаимодействия [7,10]. АТФ-азная активность HSP70 стимулируется другим HSP—HSP40. После превращения АДФ в АТФ, которое стимулируется другим молекулярным шапероном Grp-E [3], полипептиды высвобождаются, и цикл повторяется снова (рис.1). Освобожденные поли-

пептиды направляются в клеточный аппарат сборки белков, в который входят несколько других белковых шаперонов [6].

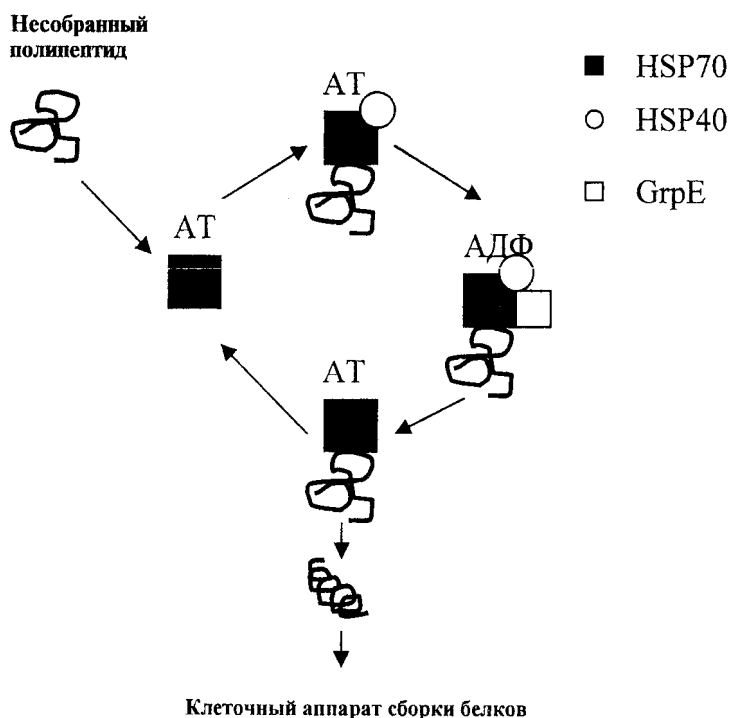


Рис. 1. Модель взаимодействия HSP70 с несобранным полипептидом [2]

Факт, что взаимодействие между полипептидами и HSP70 обратимо, является исключительно важным в процессе белкового фолдинга и переноса. Например, взаимодействие HSP70 с гидрофобной частью новообразующихся полипептидов поддерживает конформацию появляющейся цепи, пока цикл трансляции не завершится. И только затем полностью синтезированный полипептид приобретает свою конечную конформацию через путь белкового фолдинга.

Полагают, что HSP70 во время стресса взаимодействует с гидрофобной частью белков, которые появляются на поверхности белковой молекулы при повышении температуры. Когда клетка возвращается в нормальное состояние, эти денатурированные полипептиды собираются заново при помощи HSP или подвергаются действию внутриклеточных протеолитических ферментов.

HSP синтезируются в ответ на любую ситуацию, которая угрожает выживанию клетки. Синтез HSP был выявлен впервые, когда фруктовые мухи были подвергнуты действию высокой температуры. Повышение температуры на 5–10°C от нормального уровня оказывается достаточным для экспрессии HSP различными организмами. Например, арктические рыбы, живущие при низких температурах, синтезируют HSP при 10°C. Плодовые мухи, которые живут при комнатной температуре (25°C), синтезируют HSP при превышении температуры до 37°C – нормальной температуры тела млекопитающего. У млекопитающих HSP синтезируется при температуре выше 41°C, которая у человека называется фебрильной (лихорадочной) температурой. Повышение температуры – не единственный способ стимуляции продукции HSP. Тяжелые металлы, этанол, кисло-

родные радикалы и пероксиды находятся среди широкой группы агентов, которые могут вызвать реакцию теплового шока.

Синтез HSP так же наблюдается при множестве разнообразных клинических ситуаций. Несколько опытов показали синтез HSP, после ишемии печени, мозга, сердца и почек. Экспрессия генов теплового шока была также установлена во время реперфузионного периода. Были предложены две различные гипотезы для объяснения этого явления. В первой говорится о том, что сигнал для экспрессии гена HSP появляется рано, во время ишемии, но гены теплового шока не могут быть транскрибированы из-за недостатка ограничивающего фактора, такого, как АТФ. Вторая теория говорит о том, что инициатором экспрессии генов HSP являются кислородные радикалы, вырабатываемые во время реперфузии. Эта теория поддерживается экспериментами, в которых экспрессия генов HSP была подавлена добавлением супероксиддисмутазы — нейтрализатора кислородных радикалов во время реперфузионного периода.

HSP были обнаружены при ситуациях с пониженным содержанием кислорода, таких как циркуляторный и геморрагический шок. Также сообщалось, что острая гипертензия стимулирует экспрессию генов теплового шока в васкулярных эндотелиальных клетках.

Было обнаружено, что вирусы стимулируют образование HSP. Паразиты, такие как *Leishmania*, *Trypanosoma* и *Plasmodium*, сами способны синтезировать HSP во время инвазий в клетки хозяина. Возможно это происходит из-за разницы температур между хозяином и паразитом. Возможно, что синтез HSP в пораженных паразитом клетках может быть результатом их защиты и выживания во время инфекции [9].

Регуляция экспрессии генов HSP. Регуляция экспрессии генов теплового шока различна у различных видов. Например, в клетках мушки *Drosophila* гены HSP транскрибируются во время стресса, а трансляция других матриц блокируется, способствуя избирательной трансляции мРНК HSP. В клетках млекопитающих транскрипция генов HSP возникает очень быстро после стресса, и их матрицы транслируются с более высокой эффективностью, чем другие матрицы. Нет четких доказательств блокировки трансляции остальных матриц в клетках млекопитающих. Напротив, выяснилось, что положительная селективность мРНК HSP аппаратом трансляции является сопутствующим механизмом. Кроме того, более высокая селективность в сочетании с повышенной концентрацией мРНК HSP и повышенной эффективностью трансляции является результатом нормальной экспрессии HSP [12].

Полагают, что уровни экспрессии генов HSP зависят от типа клеток. Это утверждение было проиллюстрировано при анализе экспрессии генов HSP70 в различных тканях крыс, после тотальной гипертермии при 42°C. По уровню экспрессии генов HSP70 образцы расположились в следующей последовательности: печень = кишечник > селезенка > почка > легкое >> сердце > мозг. Снижение экспрессии генов HSP70 в сердце может быть результатом пониженной температуры в этом органе (41°C) во время теплового шока. Возможно, это происходит из-за непосредственной близости легких. Было показано, что разница в 1°C (41°C вместо 42°C) влияет на уровень экспрессии гена HSP 70 у крыс. Но более низкая температура не может быть причиной сокращения экспрессии гена HSP70 в мозге, поскольку температура головы была идентична температуре кишечника крыс, подвергшихся тепловому стрессу [1].

Заключение. Синтез HSP является универсальным ответом на стресс, который играет важную роль в защите клеток от вредных условий среды. К тому же, некоторые члены семейства HSP важны для фундаментальных кле-

точных процессов, таких как сборка белков, перенос полипептидов через мембраны. Фундаментальная защитная природа HSP привлекает внимание ученых и клиницистов, которые полагают, что экспрессия теплового шока может быть использована как механизм клеточной и органной защиты. Регуляция экспрессии HSP может использоваться для предотвращения повреждения органов во время операционных процедур и трансплантации. Для достижения этих целей необходимо полное понимание HSP-опосредованной клеточной защиты и регуляции ответа теплового шока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antonio De Maio Heat shock response. *New Horizons* 3:198-207, 1995.
2. Antonio De Maio Heat shock proteins: facts thoughts, and dreams. *SHOK*. - Vol. 11. - 1999. - P. 1-12.
3. Craig E.A. Chaperones: Helpers along the pathways to protein folding. *Science* 260:1902-1904, 1993.
4. Freeman B.C., Morimoto R.I. The human cytosolic molecular chaperones HSP90 HSP70 (HSC70) and HDJ-1 have distinct roles in recognition of non-nativ protein and protein refolding. *EMBO J* 15:2969-2979, 1996.
5. Frydman J., Hartl F.U. Principles of chaperone-assisted protein folding: Differens between *in vitro* and *in vivo* mechanisms. *Science*, 272, 1996.
6. Georgopoulos C. The emergence of the chaperone machines. *Trens Biochem Sci* 17:295-299, 1992.
7. Hightower L.E., Sadis S.E. Interaction of vertebrate hsp70 and hsc70 with unfolded proteins and peptides. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1994. - P. 179-207.
8. Lindquist S. The heat shock response. *Annu Rev Biochem* 55:1151-1191, 1986.
9. Minowada G., Welch W.J. Clinical implications of the stress response. *J Clin Invest* 95:3-12, 1995.
10. McKay D.B., Wilbanks S.M., Flaherty K.M., Ha J-H., O'Brien M.C., Shirvanee L.L. Stress-70 proteins and their interaction with nucleotides. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1994. - P. 153-177.
11. Morimoto R.I. Heat shock: The role of transient inducible responses in cell damage, transformation and differentiation. *Cancer Cell* 3: 295-301, 1999.
12. Skowyra D., Georgopoulos C., Zyliez M. The *E. coli* dank gene product, the HSP70 homolog, can reactivate heat-inactivated RNA polymerase in an ATP hydrolysis-dependent manner. *Cell* 62:939-944, 1990.

HEAT SHOCK PROTEINS AS A MECHANISM OF CELLULAR PROTECTION

D.D. Zhdanov, V.S. Orlova

*Ecological Faculty, Russian Peoples' Friendship University,
Podolskoye shosse, 8/5, 113093, Moscow, Russia*

The article describes the role of heat shock proteins in unstressed living cells and the mechanism of their function as natural protectors during stress conditions. The basic mechanisms of heat shock proteins genes expression are presented.