

## СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ БЕЛОК ТЕПЛООВОГО ШОКА (cvHsp, HspB7) – НЕОБЫЧНЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ СЕМЕЙСТВА МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА

©2021 г. Л. К. МУРАНОВА, В. М. ШАТОВ,  
О. В. БУКАЧ, Н. Б. ГУСЕВ

*Кафедра биохимии биологического факультета Московского  
государственного университета имени М.В. Ломоносова*

I. Введение. II. Структура и физико-химические свойства HspB7.  
III. Полиморфизм гена и тканевое распределение HspB7. IV. Про-  
цессы, в регуляции которых может участвовать HspB7. V. Заклю-  
чение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

В опытах, проведенных в лаборатории Тиссиерс (Tissieres) в 1978 году, было установлено, что при изменении температуры культивирования с 25 до 37 °С в клетках *Drosophila melanogaster* происходит быстрое увеличение синтеза серии новых белков. Эти белки имели молекулярные массы в интервале от 23 до 84 кДа [1] и были названы белками теплового шока (heat shock proteins, Hsp). Оказалось, что белки теплового шока синтезируются в клетке не только в ответ на повышение температуры, но и в ответ на любые иные неблагоприятные условия, такие как воздействие токсинов, воспаление, ишемию или гипоксию [2]. На долю этих белков приходится до 10% клеточных белков [3]. Основная функция белков теплового шока состоит в защите клетки от накопления денатурированных белков и в поддержании гомеостаза белков (в так называемом протеостазе) [3, 4].

Белки теплового шока могут быть условно разбиты на несколько семейств, отличающихся по молекулярной массе мономеров и механизму функционирования (рис. 1). Молекулярная масса мономеров белков, относящихся к семейству Hsp90 (HspC), близка к 90 кДа [5, 6]. Эти белки образуют димеры и обладают АТФазной активностью. При участии большого количества вспомогательных белков (кошаперо-

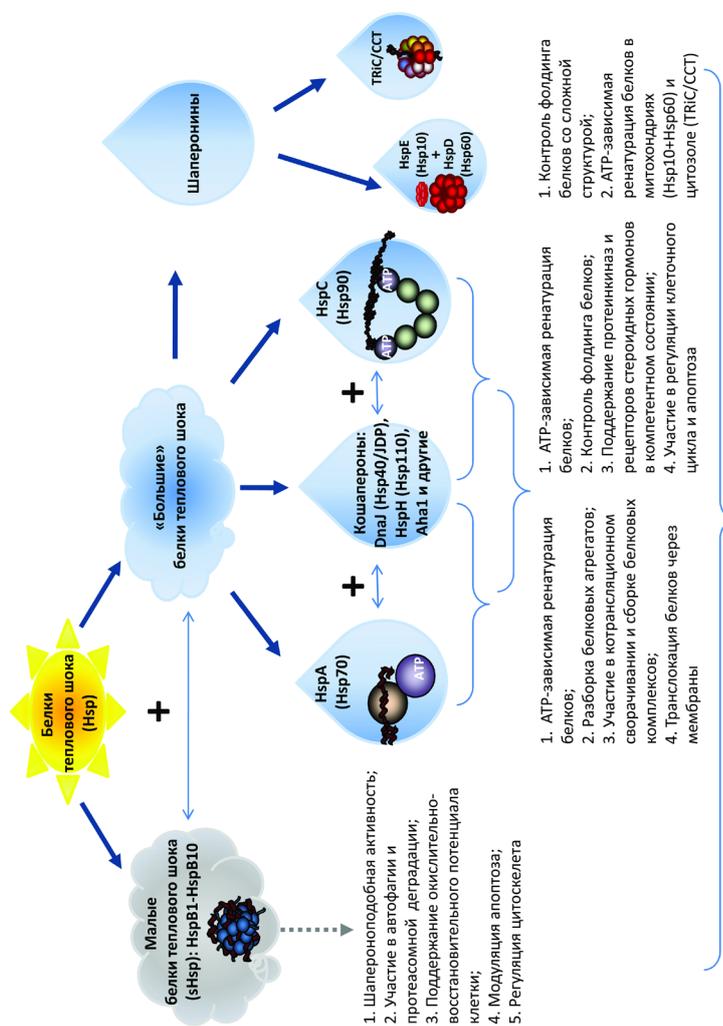


Рис. 1. Упрощенная классификация белков теплового шока, принятые обозначения классов этих белков и некоторые функции, выполняемые этими белками в клетке.

Стрелками и фигурными скобками обозначено взаимодействие различных классов белков теплового шока.

нов) белки этого семейства контролируют сворачивание полипептидных цепей многих протеинкиназ, поддерживают в компетентном состоянии рецепторы стероидных гормонов, а также контролируют клеточный цикл и процессы апоптоза [5, 6] (рис. 1). Мономеры белков, относящихся к семейству Hsp70 (HspA), имеют молекулярную массу, близкую к 70 кДа. Эти мономерные белки также обладают АТРазной активностью и в комплексе с белками семейства Hsp40 (DnaJ) (которые доставляют им белковые субстраты, определяют их локализацию в клетке и активируют их АТРазную активность) обеспечивают котрансляционное сворачивание белков, сборку белковых комплексов, доставку белков-субстратов к клеточным органеллам и перенос белков-субстратов через мембраны [7, 8] (рис. 1). Шаперонинами обозначают большую группу белков. В бактериях и митохондриях эукариот эти белки (шаперонины I типа) представлены в виде бочкообразных структур, сложенных из двух колец, в каждом из которых располагается по 7 мономеров с молекулярными массами около 60 кДа (GroEL) и 14 вспомогательных субъединиц (GroES) с молекулярными массами около 10 кДа, образующими своеобразные «крышки», с двух сторон закрывающие бочкообразные структуры. В цитозоле эукариот белки этого семейства или шаперонины II типа, также обозначаемые как TRiC или CCT, представлены в виде бочкообразных структур, сложенных из двух колец по 8 субъединиц в каждом кольце [9, 10]. Как уже отмечалось, все перечисленные выше белки (за исключением Hsp40 (DnaJ)) обладают АТРазной активностью, и при этом гидролиз АТР необходим для обеспечения правильного сворачивания белков-субстратов. В отличие от этих белков со сравнительно большой массой мономеров, еще одна группа белков теплового шока, так называемые малые белки теплового шока (small heat shock proteins, sHsp, HspB), включает в свой состав белки, не способные гидролизовать АТР [11–13] и молекулярная масса мономеров которых колеблется в интервале от 13 до 43 кДа. Эти белки обладают так называемой холдазной (удерживающей) активностью, т.е. они способны связывать частично денатурированные белки, склонные к агрегации, и переносить их для ренатурации на белки, обладающие АТРазной активностью, либо отправлять такие белки в автофагосомы или протеасомы для протеолитической деградации [14, 15] (рис. 1). Все семейства белков теплового шока тесно взаимодействуют между собой и только совместное координированное функционирование разных белков теплового шока может обеспечить поддержание нормальной структуры белков в клетке [6, 8, 16].

Белки, входящие в состав семейства малых белков теплового шока, объединяет не только малая молекулярная масса мономеров и отсутствие АТФазной активности, но и наличие в структуре этих белков консервативного  $\alpha$ -кристаллинового домена, состоящего из 80–100 аминокислот (рис. 2). Наличие этого домена считается необходимым условием включения того или иного белка в семейство sHsp [17]. Тем не менее, в ряде работ в это семейство иногда включают низкомолекулярные белки без выраженного  $\alpha$ -кристаллинового домена, обладающие шапероноподобной активностью. Один из таких белков обозначают как Hsp16.5 или HspB11 [18, 19]. Как бы то ни было, в настоящее время считается, что геном человека содержит 10 генов канонических малых белков теплового шока [20, 21]. Как видно из таблицы, гены sHsp человека разбросаны по нескольким хромосомам и кодируют белки с молекулярной массой от 17 до 28 кДа, которые, как правило, имеют кислую изоэлектрическую точку. Несмотря на значительное сходство в структуре и молекулярной массе, каждый из представителей семейства sHsp обладает целым рядом уникальных свойств. Этот обзор посвящен описанию особенностей структуры и свойств необычного малого белка теплового шока HspB7, который преимущественно экспрессируется в скелетных мышцах, сердце и адипоцитах и играет важную роль в поддержании нормального функционирования этих органов и тканей.

## II. СТРУКТУРА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА HspB7

Как это ни парадоксально, но структура и физико-химические свойства HspB7 изучены довольно поверхностно. На рис. 2 представлены выравненные первичные структуры HspB1, HspB3, HspB6, трех изоформ HspB7, HspB8 и HspB9. Две изоформы HspB7 (UniProt ID: Q9UBY9 и Q9UBY9-2) были описаны в самой первой работе, касающейся структуры этого белка [22]. Эти изоформы различаются наличием или отсутствием пентапептида АНРТА, расположенного перед началом  $\alpha$ -кристаллинового домена (рис. 2). Указанные изоформы содержат, соответственно, 170 и 175 остатков. В сердце человека содержание крупной изоформы с кажущейся молекулярной массой 25 кДа было больше, чем меньшей по размеру изоформы с кажущейся молекулярной массой 23 кДа [22]. Третья изоформа, представленная в базе данных (UniProt ID: D3YTC6), имеет делецию на конце пятой  $\beta$ -складки и содержит 165 аминокислотных остатков. Мы не нашли подробных сведений о ее распространенности. Наличие столь большого количества возможных изоформ не характерно для белков теп-

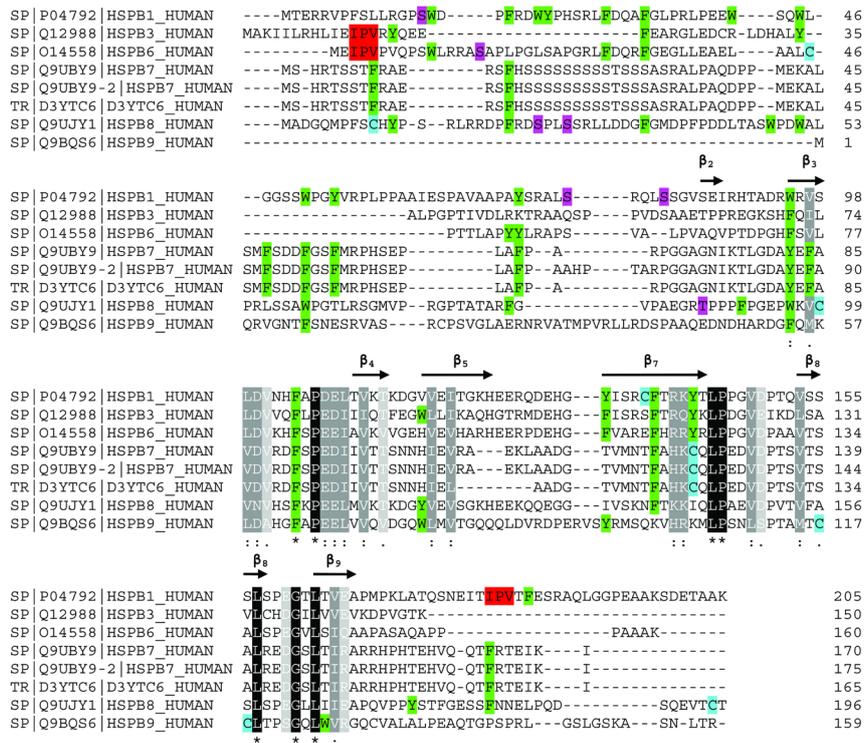


Рис. 2. Выравнивание первичных структур HspB1 (P04792), HspB3 (Q12988), HspB6 (O14558), двух изоформ HspB7 (Q9UBY9, Q9UBY9-2), белка, похожего на HspB7 (D3YTC6), HspB8 (Q9UJY1) и HspB9 (Q9BQS6).

Остатки, одинаковые у всех анализируемых белков, выделены белым на черном фоне и звездочками под последовательностями; остатки, одинаковые у семи анализируемых белков или гомологичные во всех анализируемых структурах, выделены белым на темно-сером фоне и двумя точками под последовательностями; остатки, слабо гомологичные во всех анализируемых структурах выделены белым на светло-сером фоне и одной точкой под последовательностями. Остатки триптофана, тирозина и фенилаланина помечены зеленым, остатки цистеина помечены голубым, фосфорилируемые остатки серина помечены фиолетовым, IPV мотивы в N-концевых доменах HspB3 и HspB6 и в C-концевом домене HspB1 помечены красным.

Стрелками с обозначениями номеров обозначены  $\beta$ -складки, обнаруженные в кристаллических структурах HspB1 и HspB6.

Таблица. Некоторые свойства малых белков теплового шока человека

Название	Синонимы	Номер в базе данных Uniprot	Хромосомная локализация	Количество остатков	Молекулярная масса	pI	Тканевое распределение	Партнеры при гетероолигомеризации
HspB1	Hsp25, Hsp27, Hsp28	P04792	7q11.23	205	22782	5.98	Повсеместно	HspB5, HspB6
HspB2	МКВР, Myotonic dystrophy protein kinase binding protein	Q16082	11q22-q23	182	20232	5.07	Сердце, скелетные мышцы	HspB3, HspB8
HspB3	HSPL27	Q12988	5q11.2	150	16965	5.66	Сердце, скелетные мышцы	HspB2, HspB8?
HspB4	$\alpha$ A-crystallin	P02489	21q22.3	173	19909	5.77	Хрусталик глаза	HspB5
HspB5	$\alpha$ B-crystallin	P02511	11q22.3-q23.1	175	20159	6.76	Повсеместно	HspB1, HspB4, HspB6
HspB6	Hsp20, p20	O14558	19q13.12	157	17136	5.95	Повсеместно	HspB1, HspB5, HspB8?
HspB7	cvHsp, cardiovascular heat shock protein	Q9UBY9	1p36.23-p34.3	170	18610	6.04	Сердце, скелетные мышцы, адипоциты	HspB8?
HspB8	Hsp22, H11 protein kinase, product of E21G1 gene	Q9UJY1	12q24.23	196	21604	5.00	Повсеместно	HspB1?, HspB2?, HspB3?, HspB5?, HspB6?, HspB7?
HspB9	CT51	Q9BQS6	17q21.2	159	17486	9.16	Семенники	?
HspB10	ODF1, outer dense fiber protein	Q14990	8q22.2	250	28366	8.46	Семенники	?

Знаки вопроса в колонке «Партнеры при гетероолигомеризации», означают, что взаимодействие между белками, выявленное одним из методов, не было подтверждено при использовании других методов или не было исследовано/выявлено вовсе.

лового шока человека. Из рис. 2 видно, что в первичной структуре HspB7 можно выявить хорошо сохранившийся  $\alpha$ -кристаллиновый домен, который в случае HspB7, по всей видимости, лишен части  $\beta$ 5-складки.

Наибольшие различия в первичной структуре выявляются при сравнении N-концевых доменов. Этот домен HspB7 отличается очень большим содержанием остатков серина и практически полным отсутствием остатков триптофана и тирозина, довольно широко представленных в N-концевых доменах пяти других сравниваемых малых белков теплового шока. Анализ первичной структуры свидетельствует о том, что N-концевой домен HspB7 имеет внутренне разупорядоченную структуру [23]. Это может быть связано с тем, что как в N-концевом домене, так и во всей первичной структуре HspB7 мало ароматических остатков. Действительно, в первичной структуре HspB7 есть всего лишь один остаток тирозина и 10 остатков фенилаланина, что приводит к очень необычному спектру поглощения и малому коэффициенту экстинкции при 280 нм ( $A_{280}^{0.1\%}$  составляет 0,08). Еще одной важной особенностью первичной структуры HspB7 является отсутствие консервативного IPV трипептида в C-концевом домене, играющего важную роль в образовании крупных олигомеров таких малых белков теплового шока, как HspB1, HspB4 и HspB5 [24, 25], и аналогичного пептида в N-концевом домене HspB6, играющего важную роль в тетрамеризации этого белка [26]. Отсутствие IPV трипептида в C-концевом домене HspB7 роднит его с HspB6 и HspB8, которые тоже лишены этого пептида и поэтому, как правило, образуют только малые олигомеры (димеры или тетрамеры) или даже представлены в виде мономеров [27-29].

Филогенетический анализ полной первичной структуры различных sHsp указывает на то, что структура HspB7 уникальна и не похожа на первичную структуру ни одного из представителей этого семейства [30]. В то же время при сравнении первичных структур только  $\alpha$ -кристаллиновых доменов оказывается, что структура HspB7 в какой-то степени похожа на структуру  $\alpha$ -кристаллинового домена HspB9 [30]. Биоинформатический анализ, проведенный в другой работе, свидетельствует о том, что первичная структура полноразмерного HspB7 имеет определенное сходство с первичной структурой HspB3 [21]. Как бы то ни было, можно заключить, что аминокислотный состав HspB7 достаточно необычен и имеет мало общего с соответствующими последовательностями других sHsp человека.

Для изучения физико-химических свойств анализируемого белка необходим надежный метод выделения. В литературе описано несколько методов выделения рекомбинантного HspB7. В работе китайских исследователей был разработан простой метод выделения рекомбинантного HspB7 крысы, основанный на фракционировании сульфатом аммония, ионообменной хроматографии и гель-фильтрации [31]. Этот метод позволяет получить гомогенные по данным электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия препараты белка, которые при гель-фильтрации элюируются в виде двух пиков с кажущимися молекулярными массами ~40 и ~200 кДа. Это, по мнению авторов, свидетельствует о склонности HspB7 к олигомеризации. В другой работе был разработан метод выделения гомогенного по данным электрофореза His-tag-HspB7 [32]. При ультрацентрифугировании (150.000 g, 90 мин) такой белок целиком переходил в осадок, что снова свидетельствует о том, что белок склонен к олигомеризации или к агрегации. Метод, разработанный для выделения рекомбинантного  $\alpha$ V-кристаллина [33], был также использован для выделения HspB7 [34], однако свойства этого белка не были охарактеризованы. Наконец, в работе Мыррикова и соавторов [35] для выделения HspB7 был использован метод, предложенный для выделения HspB3 [36]. Эта методика предполагает экстракцию малых белков теплового шока из телец включения высокими концентрациями мочевины с последующей ренатурацией, качество которой никак не проверялось. Полученный таким методом белок был гомогенным по данным электрофореза, но элюировался при гель-фильтрации в виде двух пиков с большой и маленькой молекулярными массами и большим количеством олигомеров с промежуточными молекулярными массами [35]. Представленные данные свидетельствуют о том, что изолированный HspB7 склонен к агрегации и/или олигомеризации. В то же время, при ультрацентрифугировании в градиенте плотности сахарозы было установлено, что V5-HspB7, экспрессируемый в клетке, ведет себя как димер или мономер [37]. Таким образом, в настоящее время нет единой точки зрения о том, какова истинная олигомерная структура HspB7.

Как уже отмечалось, sHsp имеют много общего в своей первичной структуре и, вероятно, именно поэтому способны образовывать гетероолигомерные комплексы [30, 38, 39]. Эти гетероолигомерные комплексы могут обладать свойствами, отличными от свойств гомоолигомеров соответствующих белков. По этой причине представляется важным установить, способен ли HspB7 образовывать гетероолигомерные комплексы с другими малыми белками теплового

шока. Используя методы двугибридного скрещивания, коиммунопреципитации, флуоресцентно-резонансного переноса энергии (FRET) между двумя разными флуоресцентными белками, слитыми с HspB7 и HspB8, было установлено, что эти белки могут взаимодействовать друг с другом [40]. Следует заметить, что в этих исследованиях использовались белки с таговыми последовательностями (myc, flag) или химерные конструкции, состоящие из различных флуоресцентных белков и малых белков теплового шока. В то же время свойства химерных белков, включающих в свой состав малый белок теплового шока, слитый с различными флуоресцентными белками, могут существенно отличаться от свойств не модифицированных малых белков теплового шока [41]. Поэтому для доказательства гетероолигомеризации HspB7 потребуются дополнительные исследования. В этой связи стоит еще раз упомянуть работу Вос и соавторов [37], в которой было установлено, что в клетке HspB7 образует только димеры и/или мономеры. Этот факт свидетельствует против возможности образования крупных гетероолигомерных комплексов HspB7 с другими малыми белками теплового шока. В настоящее время в литературе преобладает мнение, что HspB7 вообще не способен образовывать гетероолигомерные комплексы [42].

### III. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА И ТКАНЕВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ HspB7

Ген *HspB7* расположен в дистальном коротком плече первой хромосомы и, судя по всему, содержит 5 экзонов и 4 интрона [22]. Ген *HspB7* располагается в непосредственной близости от гена *SRARP* (steroid receptor associated and regulated protein), кодирующего белок, взаимодействующий и регулирующий рецепторы стероидных гормонов [43]. мРНК *HspB7* может подвергаться альтернативному сплайсингу, в ходе которого образуется транскрипт, кодирующий короткий белок, состоящий из 68 аминокислотных остатков, который не был выявлен при анализе протеома [22]. Для гена *HspB7* характерен существенный однонуклеотидный полиморфизм (SNP). Однонуклеотидные замены обнаружены как в кодирующей области гена (позиции 57 (C/T) S19S; 99(T/C) A33A; 351 (C/T) T117T) [44], так и во втором интроне и в 3' и 5'-некодирующих областях гена *HspB7* [44–47]. Следует особо подчеркнуть, что однонуклеотидные замены в кодирующей части гена *HspB7* человека не сопровождаются заменами аминокислот в кодируемом белке. В то же время в целом ряде работ было обнаружено, что однонуклеотидные замены в гене *HspB7* могут

коррелировать как с ишемической, так и не ишемической застойной сердечной недостаточностью и с дилатационной кардиомиопатией [45, 46, 48]. Однонуклеотидные замены в нетранскрибируемой области гена *HspB7* могут коррелировать с большим потреблением жиров, воспалением жировой ткани и тучностью у жителей центральной Европы [49]. Как уже отмечалось, однонуклеотидные замены в кодирующей области гена *HspB7* человека не сопровождаются какими бы то ни было заменами аминокислот. В то же время точечная мутация A69G в *HspB7* крупного рогатого скота коррелирует с повышенной устойчивостью животных к высоким температурам и влажности окружающей среды [50].

Тканевое распределение *HspB7* изучалось во многих работах. Вероятно, первое и наиболее подробное исследование тканевого распределения *HspB7* было проведено Крифф и сотрудниками в 1999 году [22]. В этой работе было установлено, что в сердце человека на долю мРНК *HspB7* приходится до 0,3%. На уровне белка наибольшее количество *HspB7* было выявлено в сердце, скелетных мышцах и жировой ткани [22]. При этом уровень *HspB7* в жировой ткани заметно повышался у тучных крыс. Был сделан вывод, что наибольший уровень синтеза *HspB7* характерен для инсулин-чувствительных тканей. Этот вывод был подтвержден в более поздних исследованиях [30]. Любопытно отметить, что при подробном исследовании было установлено, что мРНК *HspB7* может быть обнаружена практически во всех анализируемых органах и тканях, в то время как кодируемый этой мРНК белок удается выявить только в сердце, скелетных мышцах и адипоцитах [51]. Были проведены подробные исследования экспрессии *HspB7* в мозге. Было установлено, что уровень экспрессии *HspB7* достаточно мал, однако в ответ на окклюзию средней артерии большого мозга происходит трёхкратное увеличение экспрессии этого белка, хотя и в этом случае количество *HspB7* в мозге остается несоизмеримо малым по сравнению с *HspB1* и *HspB5* [52].

Как уже отмечалось, самый высокий уровень экспрессии *HspB7* характерен для скелетных мышц и сердца, при этом уровень экспрессии этого белка зависит от многих факторов. Например, был прослежен ход изменения уровня *HspB7* в скелетных мышцах и сердце свиней и было установлено, что по мере взросления от полностью сформированного плода до 3-летнего возраста происходит существенное увеличение уровня *HspB7* в скелетных мышцах без значимого увеличения экспрессии этого белка в сердце [53]. Одновременно с этим было обнаружено, что при старческом перерождении мышц крыс (при так называемой саркопении) также происходит существенное

увеличение уровня HspB7 [2, 54]. Уровень HspB7 увеличивался в 8 раз в диафрагме мышей с дистрофией, связанной с мутацией гена дистрофина в X-хромосоме (*Dmd<sup>mdx</sup>* мыши, модель дистрофии Дюшена) [55, 56]. Заметное увеличение уровня малого белка теплового шока HspB7 было отмечено в камбаловидной мышце крыс с диабетом, вызванным стрептозотоцином [57]. Представленные данные свидетельствуют о том, что как развитие мышц, так и различные патологические процессы (такие как мутации дистрофина или вызванный диабетом нарушения метаболизма) сопровождаются повышением уровня HspB7 в скелетных мышцах.

Аналогичные изменения содержания HspB7 происходят и в сердце. Стягивание аорты крысы (*transverse aortic constriction*) уже на четвертый день сопровождается увеличением уровня HspB7 в левом желудочке [58]. Ишемия сердца сопровождается перемещением HspB7 из цитозоля на сократительный аппарат [34], где, по всей видимости, этот белок совместно с другими sHsp каким-то образом стабилизирует сократительные белки. Любопытно отметить, что уже через 1–3 часа после острого коронарного синдрома или инфаркта миокарда в крови резко увеличивается уровень HspB7, вышедшего из поврежденных кардиомиоцитов [59]. По этой причине было высказано предложение использовать HspB7 в качестве эффективного и надежного раннего маркера инфаркта миокарда [59].

Как уже отмечалось, еще одной тканью, в которой отмечен сравнительно высокий уровень экспрессии HspB7, является жировая ткань [22]. В исследовании, проведенном на поджарых и тучных мужчинах 21–35 лет, потребляющих сходную богатую жиром пищу и имеющих недостаточную физическую активность, было установлено, что уровень мРНК *HspB7* в жировой ткани тучных мужчин выше, чем в случае поджарых испытуемых [60]. Как уже отмечалось выше, результаты, полученные чешскими исследователями, свидетельствуют о том, что однонуклеотидные замены в некодирующей области гена *HspB7* могут коррелировать с увеличением веса и ожирением у жителей восточной Европы. Высказывается предположение, что однонуклеотидная замена А на Т в 3'-нетранслируемой области гена *HspB7* (rs1048261) может влиять на эффекты, вызываемые микроРНК *mir-874* и *mir-143*, и приводить к тучности [49]. Подводя итог этого раздела, можно заключить, что уровень экспрессии HspB7 особенно высок в инсулин-зависимых тканях (сердце, скелетных мышцах, жировой ткани), и этот уровень может сильно меняться в ходе индивидуального развития и при различных неблагоприятных воздействиях.

#### IV. ПРОЦЕССЫ, В РЕГУЛЯЦИИ КОТОРЫХ МОЖЕТ УЧАСТВОВАТЬ HspB7

Как уже отмечалось, главная функция малых белков теплового шока состоит в предотвращении накопления денатурированных и агрегированных белков в клетке. Это может быть достигнуто либо путем связывания денатурированных белков и препятствования их агрегации (т.н. шапероноподобная активность) с возможностью дальнейшей передачи денатурированных субстратов АТР-зависимым белкам теплового шока, которые способны обеспечить ренатурацию денатурированных белков, либо путем избирательной протеолитической деградации белков, не поддающихся ренатурации.

Малые белки теплового шока обладают холдазной активностью, т.е. способны связывать и удерживать в растворимом состоянии частично денатурированные белки, проявляя так называемую шапероноподобную активность. Эта активность, как правило, измеряется по способности sHsp предотвращать агрегацию различных модельных белков, вызванную повышением температуры или восстановлением дисульфидных мостиков. Подробное измерение шапероноподобной активности с использованием большого количества различных субстратов и их агрегации, вызванной повышением температуры или восстановлением дисульфидных мостиков, показало, что HspB7 отличается от всех остальных малых белков теплового шока крайне малой эффективностью [35]. Более того, оказалось, что HspB7 коагрегирует с некоторыми белковыми субстратами [35]. Однако, при анализе агрегации фрагмента хантингтина, обогащенного остатками глутамина, оказалось, что HspB7 проявляет максимальную активность по сравнению со всеми остальными исследованными sHsp [37]. Любопытно, что механизм агрегации этого белка, судя по всему, отличен от механизма аморфной агрегации, вызываемой повышением температуры или восстановлением дисульфидных мостиков. Было установлено, что HspB7 взаимодействует с белками, обогащенными Gln, и это взаимодействие целиком зависит от уникального по своему составу N-концевого домена HspB7. Химерный белок, состоящий из N-концевого домена HspB7 и  $\alpha$ -кристаллинового домена HspB1, приобретал способность эффективно предотвращать агрегацию фрагмента хантингтина, а изолированный N-концевой домен HspB7 терял эту способность [42]. Высказывается предположение, что предотвращение агрегации фрагмента хантингтина связано с тем, что HspB7 каким-то не вполне понятным образом активизирует процесс автофагии [37].

Влияние HspB7 на процессы автофагии исследовалось во многих работах [37, 42, 48, 61–64]. Полученные данные довольно противоречивы и, вероятно, зависят от анализируемых белков-субстратов и исследуемых органов или культур клеток. Так потеря HspB7 у рыбы *Danio rerio* активировала автофагию [62], в то время как в большинстве других работ утверждается, что HspB7 каким-то образом способствует удалению денатурированных белков в автофагосомах. При этом сначала высказывалось предположение, что HspB7 может взаимодействовать с HspB8 и адаптерным белком Bag3 и таким образом способствовать транспортировке денатурированных белков в автофагосомы [48, 61]. Были даже получены экспериментальные данные о том, что HspB7 напрямую взаимодействует с Bag3 [48]. Эти результаты, однако, впоследствии были опровергнуты [65, 66]. Вероятно, наибольшее количество работ было выполнено на клетках, экспрессирующих фрагмент хантингтина, содержащий большое количество остатков Gln и склонный к агрегации. Как уже отмечалось, HspB7 наиболее эффективно по сравнению со всеми остальными малыми белками теплового шока предотвращал агрегацию этого фрагмента хантингтина в клетке [37, 42]. В лаборатории профессора Кампинги был разработан изящный метод, позволяющий следить за судьбой как «старых», давно образовавшихся, так и «новых», только формирующихся агрегатов фрагмента хантингтина [14]. Оказалось, что HspB7 не способен разбирать «старые» агрегаты фрагмента хантингтина, но препятствует образованию «новых» агрегатов этого белка. Поэтому было высказано предположение, что HspB7 напрямую взаимодействует с фрагментом хантингтина и препятствует формированию центров агрегации, но при этом не способен регулировать рост вновь образуемых агрегатов или разбирать «старые» агрегаты. Эти данные очень полно и детально объясняют механизм действия HspB7 в ходе агрегации богатых Gln белков и пептидов, но, вероятно, не могут быть универсальными и поэтому не могут описать влияние HspB7 на процессы автофагии с разными белками-субстратами во всех органах и тканях.

Некоторые малые белки теплового шока (в частности HspB1) принимают активное участие в защите клеток от окислительного стресса, активируя ферменты, обеспечивающие синтез НАДФН, и/или поддерживая уровень восстановленного глутатиона [67]. Оказалось, что HspB7 является высокочувствительным сенсором реактивных электрофилов в клетке [68]. Сенсором электрофилов является единственный остаток цистеина (Cys125 в Q9UBY9), расположенный в  $\beta 6/\beta 7$  складке  $\alpha$ -кристаллинового домена [68]. Учитывая, что

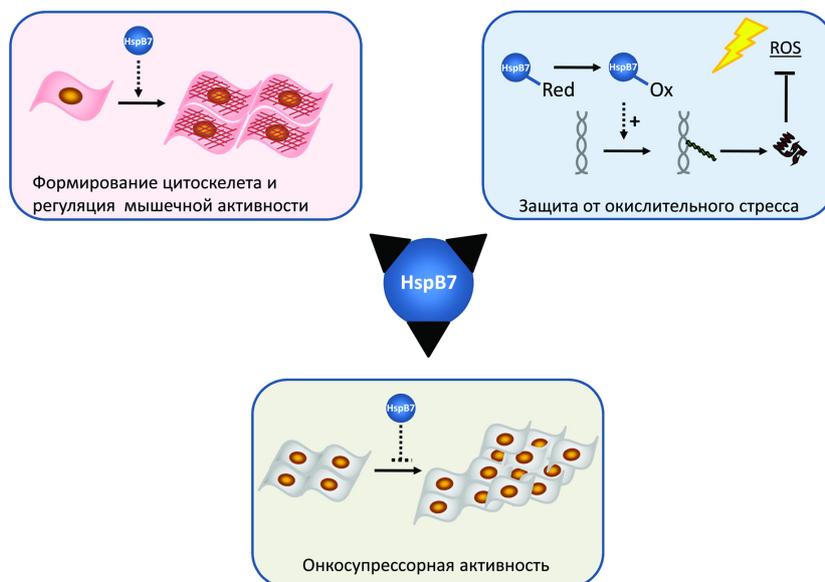


Рис. 3. Функции, приписываемые HspB7.

Считается, что HspB7 участвует в формировании цитоскелета и сократительного аппарата и защищает элементы цитоскелета от неблагоприятных воздействий. HspB7 является сенсором активных форм кислорода и каким-то образом инициирует синтез белков, обеспечивающих защиту клеток от окислительного стресса. Данные литературы свидетельствуют о том, что HspB7 обладает выраженной онкосупрессорной активностью.

концентрация HspB7 в клетках не очень велика, трудно представить, что окисление HspB7 может спасти клетку от окислительного стресса. Более вероятной представляется возможность того, что HspB7, выступая в качестве сенсора, каким-то образом запускает в клетке процессы, обеспечивающие защиту от окислительного стресса (рис. 3). В этой связи любопытно отметить, что в абдоминальном жире тучных пациентов наблюдается увеличение экспрессии гена *HspB7* [60]. Авторы расценивают это как свидетельство того, что происходит активация генов, отвечающих за окислительный стресс, но, вероятно, это просто означает, что в клетке происходит активация синтеза сенсорного белка, который может инициировать многочисленные процессы, обеспечивающие защиту от окислительного стресса. С этим предположением согласуются экспериментальные результаты,

полученные на пролиферирующих фибробластах кожи человека [69]. В этих опытах было показано, что добавление пантотената приводило к увеличению пролиферации и миграции фибробластов кожи. При этом происходило существенное (почти 2-кратное) увеличение содержания мРНК *HspB7* и уменьшение концентрации свободных радикалов, т.е. происходила активация системы защиты от окислительного шока [69].

Уже в первых работах, посвященных исследованию *HspB7*, были получены данные, свидетельствующие о том, что этот белок может взаимодействовать с филамином, белком, играющим важную роль в формировании актинового цитоскелета и его прикреплении к клеточной мембране [22] (рис. 3). Эти исследования получили развитие в последующих работах. Так было показано, что отсутствие *HspB7* в диафрагме вызывает фиброз, нарушение структуры саркомеров и повреждение целостности сарколеммы. Эти процессы обусловлены тем, что *HspB7* вступает во взаимодействие с двадцать четвертым  $\beta$ -складчатым доменом филамина, обеспечивающим его димеризацию. В отсутствие *HspB7* происходит нарушение локализации и агрегация филамина С, ведущая к прогрессирующей миопатии [70]. Еще одним партнером *HspB7* в скелетных мышцах и кардиомиоцитах может быть титин [62]. Полная потеря или мутация *HspB7* сопровождается усилением автофагии и повышенным синтезом другого малого белка теплового шока, *HspB5* [62]. Цитологические и биохимические данные согласуются с этими сведениями и свидетельствуют о том, что *HspB7* может взаимодействовать с сократительным аппаратом, и при этом ишемия сопровождается перемещением *HspB7* из цитозоля на миофибриллы [34]. Нет никакого сомнения в том, что *HspB7* оказывает существенное влияние на процесс образования филаментов актина [32]. Так оказалось, что полный нокаут гена *HspB7* приводит к гибели эмбрионов мышечной ткани из-за того, что нарушается процесс формирования сердца. При этом в эмбриональных кардиомиоцитах происходит образование аномальных актиновых филаментов, лишенных тропомиозина и тропонина Т. В отсутствие *HspB7* происходило увеличение синтеза лейомодина и наблюдалось независимое от лейомодина удлинение актиновых филаментов [32]. Авторы приводят данные, свидетельствующие о том, что *HspB7* способен связываться с G-актином и уменьшать скорость его полимеризации [32]. Нам кажется, что полученные в этой работе данные убедительно свидетельствуют о взаимодействии *HspB7* с актиновым цитоскелетом, однако данные, касающиеся прямого взаимодействия *HspB7* с моно-

мерным актином и влияния HspB7 на полимеризацию актина, требуют дальнейшей проверки и подтверждения.

В ответ на сигналы, стимулирующие атрофию мышц мышей (введение дексаметазона, глюкокортикоиды), происходит увеличение синтеза HspB7 [61]. Этот факт в определенной степени коррелирует с упомянутым ранее повышением уровня HspB7 в диафрагме мышей с мутациями дистрофина [55, 56] и увеличением содержания HspB7 при саркопении (старческой дистрофии мышц) [2, 54].

Как уже отмечалось, нокаут гена *HspB7* приводит к нарушению формирования сердца мышей. Аналогичные результаты были получены при исследовании морфогенеза сердца у *Danio rerio*. Синтез HspB7 начинается на стадии 5 сомитов, на стадии 25 сомитов синтез HspB7 оказывается под контролем транскрипционного фактора GATA4, при этом HspB7 экспрессируются только в миокарде. Направленное подавление синтеза HspB7 влияет на морфологию купферовских везикул, которые определяют левую-правую ось асимметрии и приводит к блокаде формирования сердечных тубул. Сделан вывод, что HspB7 влияет на морфогенез сердца, что может влиять на возникновение врожденных или приобретенных заболеваний сердца [71, 72]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что HspB7 играет важную роль в процессах онтогенеза и дифференцировки клеток. Действительно, было установлено, что при нарушениях эмбриогенеза передних конечностей мышей, вызванных введением полностью транс-ретиноевой кислоты, происходит уменьшение экспрессии HspB7. При этом делается вывод, что малые белки теплового шока и в частности HspB7 играют важную роль в ходе формирования различных органов и тканей [73]. При исследовании дифференцировки нейрональных стволовых клеток было установлено, что добавление этанола приводит к резкому увеличению экспрессии мРНК *HspB2* и *HspB7*. Вызванное спиртом и нехарактерное для нервных клеток повышение уровня мРНК *HspB7* может влиять на процесс дифференцировки и сказываться на развитии плода у матерей, потребляющих алкоголь [74].

В последние годы появились удивительные данные, свидетельствующие о том, что HspB7 может каким-то образом участвовать в защите клеток от злокачественного перерождения (рис. 3). Так было установлено, что при гепатоцеллюлярной карциноме, связанной с гепатитом В, в опухолевых клетках наблюдается существенное увеличение экспрессии белков теплового шока Hsp90, Hsp70 и Hsp60 и одновременно с этим происходит существенное умень-

шение экспрессии некоторых малых белков теплового шока, таких как HspB2, HspB3, HspB6, HspB7 [75]. При анализе пяти линий карциномы почечного эпителия было обнаружено, что эктопическое введение HspB7 подавляло рост раковых клеток. При анализе полученных данных был сделан вывод, что HspB7 обладает онкосупрессорной активностью, при этом p53 увеличивает уровень HspB7, а гиперметилирование гена *HspB7* подавляет его экспрессию [76]. Оказалось, что многие виды рака могут быть связаны с делецией дистального короткого плеча хромосомы 1, т.е. области, в которой располагаются близко расположенные гены *HspB7* и *SRARP* (steroid receptor associated and regulated protein). Высказывается предположение, что HspB7 и SRARP обладают онкосупрессорной активностью, поэтому гиперметилирование генов этих белков, пониженное количество копий белка, соматические мутации, коррелируют с плохим клиническим прогнозом [43]. По всей видимости, HspB7 действительно обладает онкосупрессорной активностью, продемонстрированной в трех цитированных работах. Однако высказанное Надери [43] предположение о том, что этот эффект может быть связан с фосфорилированием HspB7 и его взаимодействием с 14-3-3, требует дополнительных экспериментальных подтверждений.

## V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

HspB7, являющийся одним из 10 малых белков теплового шока, кодируемых в геноме человека, обладает целым рядом необычных свойств. Этот белок экспрессируется только в инсулин-зависимых тканях (сердце, скелетные мышцы, жировая ткань) и имеет необычную первичную структуру, довольно сильно отличающуюся от структуры других малых белков теплового шока. Для гена HspB7 характерно большое количество однонуклеотидных замен, часть из которых коррелирует с сердечно-сосудистыми заболеваниями и метаболическим синдромом ожирения. Экспрессия HspB7 увеличивается под действием различных неблагоприятных и стрессорных воздействий. HspB7 может участвовать в регуляции избирательной деградации денатурированных белков в автофагосомах, поддержании окислительно-восстановительного потенциала, в защите и регуляции сборки сократительного аппарата, а также может проявлять онкосупрессорную активность. Молекулярные механизмы, обеспечивающие столь большое разнообразие выполняемых HspB7 функций, остаются мало изученными. По этой причине представляется важным дальнейшее подробное исследование структуры этого белка

и выявление белков-партнеров, обеспечивающих реализацию всех процессов, в которых участвует этот многофункциональный белок.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Moran, L., Mirault, M.E., Arrigo, A.P., Goldschmidt-Clermont, M., Tissieres, A. (1978) Heat shock of *Drosophila melanogaster* induces the synthesis of new messenger RNAs and proteins. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **283**, 391–406. DOI: 10.1098/rstb.1978.0044.
2. Doran, P., Gannon, J., O'Connell, K., Ohlendieck, K. (2007) Aging skeletal muscle shows a drastic increase in the small heat shock proteins alphaB-crystallin/HspB5 and cvHsp/HspB7. *Eur. J. Cell Biol.*, **86**, 629–640. DOI: 10.1016/j.ejcb.2007.07.003.
3. Finka, A., Mattoo, R.U., Goloubinoff, P. (2016) Experimental Milestones in the Discovery of Molecular Chaperones as Polypeptide Unfolding Enzymes. *Annu. Rev. Biochem.*, **85**, 715–742. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014124.
4. Morimoto, R.I. (2019) Cell-Nonautonomous Regulation of Proteostasis in Aging and Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* DOI: 10.1101/cshperspect.a034074.
5. Hoter, A., El-Sabban, M.E., Naim, H.Y. (2018) The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 2560. DOI: 10.3390/ijms19092560.
6. Genest, O., Wickner, S., Doyle, S.M. (2019) Hsp90 and Hsp70 chaperones: Collaborators in protein remodeling. *J. Biol. Chem.*, **294**, 2109–2120. DOI: 10.1074/jbc.REV118.002806.
7. Rosenzweig, R., Nillegoda, N.B., Mayer, M.P., Bukau, B. (2019) The Hsp70 chaperone network. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 665–680. DOI: 10.1038/s41580-019-0133-3.
8. Liu, Q., Liang, C., Zhou, L. (2020) Structural and functional analysis of the Hsp70/Hsp40 chaperone system. *Protein Sci.*, **29**, 378–390. DOI: 10.1002/pro.3725.
9. Vilasi, S., Bulone, D., Caruso Bavisotto, C., Campanella, C., Marino Gammazza, A., San Biagio, P.L., Cappello, F., Conway de Macario, E., Macario, A.J.L. (2017) Chaperonin of Group I: Oligomeric Spectrum and Biochemical and Biological Implications. *Frontiers in molecular biosciences*, **4**, 99. DOI: 10.3389/fmolb.2017.00099.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология». Часть работы, касающаяся физиологической активности HspB7, выполнена Л.К. Мурановой и В.М. Шатовым при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-74-00013), другая часть работы, касающаяся характеристики физико-химических свойств HspB7, выполнена Н.Б. Гусевым при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00038).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

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

10. Ishida, R., Okamoto, T., Motojima, F., Kubota, H., Takahashi, H., Tanabe, M., Oka, T., Kitamura, A., Kinjo, M., Yoshida, M., Otaka, M., Grave, E., Itoh, H. (2018) Physicochemical Properties of the Mammalian Molecular Chaperone HSP60. *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 489. DOI: 10.3390/ijms19020489.
11. Мумриков, Е.В., Seit-Nebi, А.С., Gusev, N.B. (2011) Large potentials of small heat shock proteins. *Physiol. Rev.*, **91**, 1123–1159. DOI: 10.1152/physrev.00023.2010.
12. Haslbeck, M., Vierling, E. (2015) A first line of stress defense: small heat shock proteins and their function in protein homeostasis. *J. Mol. Biol.*, **427**, 1537–1548. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.02.002.
13. Janowska, M.K., Baughman, H.E.R., Woods, C.N., Klevit, R.E. (2019) Mechanisms of Small Heat Shock Proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* DOI: 10.1101/cshperspect.a034025.
14. Eenjes, E., Dragich, J.M., Kampinga, H.H., Yamamoto, A. (2016) Distinguishing aggregate formation and aggregate clearance using cell-based assays. *J. Cell Sci.*, **129**, 1260–1270. DOI: 10.1242/jcs.179978.
15. Rusmini, P., Cristofani, R., Galbiati, M., Cicardi, M.E., Meroni, M., Ferrari, V., Vezzoli, G., Tedesco, B., Messi, E., Piccolella, M., Carra, S., Crippa, V., Poletti, A. (2017) The Role of the Heat Shock Protein B8 (HSPB8) in Motoneuron Diseases. *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, 176. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00176.
16. Zwirowski, S., Klosowska, A., Obuchowski, I., Nillegoda, N.B., Pirog, A., Zietkiewicz, S., Bukau, B., Mogk, A., Liberek, K. (2017) Hsp70 displaces small heat shock proteins from aggregates to initiate protein refolding. *EMBO J.*, **36**, 783–796. DOI: 10.15252/embj.201593378.
17. Kappe, G., Boelens, W.C., de Jong, W.W. (2010) Why proteins without an alpha-crystallin domain should not be included in the human small heat shock protein family HSPB. *Cell Stress Chaperones*, **15**, 457–461. DOI: 10.1007/s12192-009-0155-4.
18. Bellyei, S., Szigeti, A., Boronkai, A., Pozsgai, E., Gomori, E., Melegh, B., Janaky, T., Bognar, Z., Hocsak, E., Sumegi, B., Gallyas, F., Jr. (2007) Inhibition of cell death by a novel 16.2 kD heat shock protein predominantly via Hsp90 mediated lipid rafts stabilization and Akt activation pathway. *Apoptosis*, **12**, 97–112. DOI: 10.1007/s10495-006-0486-x.
19. Pozsgai, E., Gomori, E., Szigeti, A., Boronkai, A., Gallyas, F., Jr., Sumegi, B., Bellyei, S. (2007) Correlation between the progressive cytoplasmic expression of a novel small heat shock protein (Hsp16.2) and malignancy in brain tumors. *BMC Cancer*, **7**, 233. DOI: 10.1186/1471-2407-7-233.
20. Kappe, G., Franck, E., Verschuure, P., Boelens, W.C., Leunissen, J.A., de Jong, W.W. (2003) The human genome encodes 10 alpha-crystallin-related small heat shock proteins: HspB1-10. *Cell Stress Chaperones*, **8**, 53–61.
21. Fontaine, J.M., Rest, J.S., Welsh, M.J., Benndorf, R. (2003) The sperm outer dense fiber protein is the 10th member of the superfamily of mammalian small stress proteins. *Cell Stress Chaperones*, **8**, 62–69.
22. Krief, S., Faivre, J.F., Robert, P., Le Douarin, B., Brument-Larignon, N., Lefrere, I., Bouzyk, M.M., Anderson, K.M., Grellier, L.D., Tobin, F.L., Souchet, M., Bril, A. (1999) Identification and characterization of cvHsp. A novel human small stress protein selectively expressed in cardiovascular and insulin-sensitive tissues. *J. Biol. Chem.*, **274**, 36592–36600. DOI: 10.1074/jbc.274.51.36592.

23. Webster, J.M., Darling, A.L., Uversky, V.N., Blair, L.J. (2019) Small Heat Shock Proteins, Big Impact on Protein Aggregation in Neurodegenerative Disease. *Frontiers in pharmacology*, **10**, 1047. DOI: 10.3389/fphar.2019.01047.
24. Delbecq, S.P., Jehle, S., Klevit, R. (2012) Binding determinants of the small heat shock protein, alphaB-crystallin: recognition of the 'IxI' motif. *EMBO J.*, **31**, 4587–4594. DOI: emboj2012318 [pii] 10.1038/emboj.2012.318.
25. Hilton, G.R., Hochberg, G.K., Laganowsky, A., McGinnigle, S.I., Baldwin, A.J., Benesch, J.L. (2013) C-terminal interactions mediate the quaternary dynamics of alphaB-crystallin. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **368**, 20110405. DOI: 10.1098/rstb.2011.0405.
26. Sluchanko, N.N., Beelen, S., Kulikova, A.A., Weeks, S.D., Antson, A.A., Gusev, N.B., Strelkov, S.V. (2017) Structural Basis for the Interaction of a Human Small Heat Shock Protein with the 14-3-3 Universal Signaling Regulator. *Structure*, **25**, 305–316. DOI: 10.1016/j.str.2016.12.005.
27. Bukach, O.V., Seit-Nebi, A.S., Marston, S.B., Gusev, N.B. (2004) Some properties of human small heat shock protein Hsp20 (HspB6). *Eur. J. Biochem.*, **271**, 291–302. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03928.x.
28. Kim, M.V., Seit-Nebi, A.S., Marston, S.B., Gusev, N.B. (2004) Some properties of human small heat shock protein Hsp22 (H11 or HspB8). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**, 796–801. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.01.130.
29. Heirbaut, M., Lermyte, F., Martin, E.M., Beelen, S., Sobott, F., Strelkov, S.V., Weeks, S.D. (2017) Specific sequences in the N-terminal domain of human small heat-shock protein HSPB6 dictate preferential hetero-oligomerization with the orthologue HSPB1. *J. Biol. Chem.*, **292**, 9944–9957. DOI: 10.1074/jbc.M116.773515.
30. Vos, M.J., Kanon, B., Kampinga, H.H. (2009) HSPB7 is a SC35 speckle resident small heat shock protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **1793**, 1343–1353. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.05.005.
31. Yang, Z., Wang, Y., Lu, Y., Zhao, X. (2011) Molecular characterization of rat cvHsp/HspB7 in vitro and its dynamic molecular architecture. *Molecular medicine reports*, **4**, 105–111. DOI: 10.3892/mmr.2010.382.
32. Wu, T., Mu, Y., Bogomolovas, J., Fang, X., Veevers, J., Nowak, R.B., Pappas, C.T., Gregorio, C.C., Evans, S.M., Fowler, V.M., Chen, J. (2017) HSPB7 is indispensable for heart development by modulating actin filament assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **114**, 11956–11961. DOI: 10.1073/pnas.1713763114.
33. Perng, M.D., Wen, S.F., van den, I.P., Prescott, A.R., 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.
34. Golenhofen, N., Perng, M.D., Quinlan, R.A., Drenckhahn, D. (2004) Comparison of the small heat shock proteins alphaB-crystallin, MKBP, HSP25, HSP20, and cvHSP in heart and skeletal muscle. *Histochem. Cell Biol.*, **122**, 415–425. DOI: 10.1007/s00418-004-0711-z.
35. Mymrikov, E.V., Daake, M., Richter, B., Haslbeck, M., Buchner, J. (2017) The Chaperone Activity and Substrate Spectrum of Human Small Heat Shock Proteins. *J. Biol. Chem.*, **292**, 672–684. DOI: 10.1074/jbc.M116.760413.

36. Asthana, A., Raman, B., Ramakrishna, T., Rao, C.M. (2012) Structural Aspects and Chaperone Activity of Human HspB3: Role of the "C-Terminal Extension". *Cell Biochem. Biophys.* **64**, 61–72. DOI: 10.1007/s12013-012-9366-x.
37. Vos, M.J., Zijlstra, M.P., Kanon, B., van Waarde-Verhagen, M.A., Brunt, E.R., Oosterveld-Hut, H.M., Carra, S., Sibon, O.C., Kampinga, H.H. (2010) HSPB7 is the most potent polyQ aggregation suppressor within the HSPB family of molecular chaperones. *Hum. Mol. Genet.*, **19**, 4677–4693. DOI: 10.1093/hmg/ddq398.
38. Mymrikov, E.V., Seit-Nebi, A.S., Gusev, N.B. (2011) Heterooligomeric complexes of human small heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones.* **95**, 1794–1804. DOI: 10.1007/s12192-011-0296-0.
39. Arrigo, A.P. (2013) Human small heat shock proteins: protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: an update. *FEBS Lett.*, **587**, 1959–1969. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.05.011.
40. Sun, X., Fontaine, J.M., Rest, J.S., Shelden, E.A., Welsh, M.J., Bendorf, R. (2004) Interaction of human HSP22 (HSPB8) with other small heat shock proteins. *J. Biol. Chem.*, **279**, 2394–2402. DOI: 10.1074/jbc.M311324200.
41. Datskevich, P.N., Mymrikov, E.V., Gusev, N.B. (2012) Utilization of fluorescent chimeras for investigation of heterooligomeric complexes formed by human small heat shock proteins. *Biochimie*, **94**, 1794–1804. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.04.012.
42. Wu, D., Vonk, J.J., Salles, F., Vonk, D., Haslbeck, M., Melki, R., Bergink, S., Kampinga, H.H. (2019) The N terminus of the small heat shock protein HSPB7 drives its polyQ aggregation-suppressing activity. *J. Biol. Chem.*, **294**, 9985–9994. DOI: 10.1074/jbc.RA118.007117.
43. Naderi, A. (2018) SRARP and HSPB7 are epigenetically regulated gene pairs that function as tumor suppressors and predict clinical outcome in malignancies. *Mol. Oncol.*, **12**, 724–755. DOI: 10.1002/1878-0261.12195.
44. Matkovich, S.J., Van Booven, D.J., Hindes, A., Kang, M.Y., Druley, T.E., Vallania, F.L., Mitra, R.D., Reilly, M.P., Cappola, T.P., Dorn, G.W., 2nd. (2010) Cardiac signaling genes exhibit unexpected sequence diversity in sporadic cardiomyopathy, revealing HSPB7 polymorphisms associated with disease. *J. Clin. Invest.*, **120**, 280–289. DOI: 10.1172/JCI39085.
45. Cappola, T.P., Li, M., He, J., Ky, B., Gilmore, J., Qu, L., Keating, B., Reilly, M., Kim, C.E., Glessner, J., Frackelton, E., Hakonarson, H., Syed, F., Hindes, A., Matkovich, S.J., Cresci, S., Dorn, G.W., 2nd. (2010) Common variants in HSPB7 and FRMD4B associated with advanced heart failure. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, **3**, 147–154. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.109.898395.
46. Wang, M., Ding, H., Kang, J., Hu, K., Lu, W., Zhou, X., Xu, L. (2016) Association between polymorphisms of the HSPB7 gene and Cheyne-Stokes respiration with central sleep apnea in patients with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure. *Int. J. Cardiol.*, **221**, 926–931. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.07.107.
47. Burdon, K.P., Hattersley, K., Lachke, S.A., Laurie, K.J., Maas, R.L., Mackey, D.A., Craig, J.E. (2008) Investigation of eight candidate genes on chromosome 1p36 for autosomal dominant total congenital cataract. *Mol. Vis.*, **14**, 1799–1804.
48. Esslinger, U., Garnier, S., Korniat, A., Proust, C., Kararigas, G., Muller-

- Nurasyid, M., Empana, J.P., Morley, M.P., Perret, C., Stark, K., Bick, A.G., Prasad, S.K., Kriebel, J., Li, J., Tired, L., Strauch, K., O'Regan, D.P., Marguiles, K.B., Seidman, J.G., Boutouyrie, P., Lacolley, P., Jouven, X., Hengstenberg, C., Komajda, M., Hakonarson, H., Isnard, R., Arbustini, E., Grallert, H., Cook, S.A., Seidman, C.E., Regitz-Zagrosek, V., Cappola, T.P., Charron, P., Cambien, F., Villard, E. (2017) Exome-wide association study reveals novel susceptibility genes to sporadic dilated cardiomyopathy. *PLoS ONE*, **12**, e0172995. DOI: 10.1371/journal.pone.0172995.
49. Pavlova, T., Novak, J., Zlamal, F., Bienertova-Vasku, J. (2018) HSPB7 gene polymorphism associated with anthropometric parameters of obesity and fat intake in a Central European population. *Cent. Eur. J. Public Health*, **26**, 272–277. DOI: 10.21101/cejph.a4921.
50. Zeng, L., Cao, Y., Wu, Z., Huang, M., Zhang, G., Lei, C., Zhao, Y. (2019) A Missense Mutation of the HSPB7 Gene Associated with Heat Tolerance in Chinese Indicine Cattle. *Animals: an open access journal from MDPI*, **9**. DOI: 10.3390/ani9080554.
51. Quraishe, S., Asuni, A., Boelens, W.C., O'Connor, V., Wytenbach, A. (2008) Expression of the small heat shock protein family in the mouse CNS: differential anatomical and biochemical compartmentalization. *Neuroscience*, **153**, 483–491. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.01.058.
52. Bartelt-Kirbach, B., Slowik, A., Beyer, C., Golenhofen, N. (2017) Upregulation and phosphorylation of HspB1/Hsp25 and HspB5/alphaB-crystallin after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Cell Stress Chaperones*, **22**, 653–663. DOI: 10.1007/s12192-017-0794-9.
53. Verschuure, P., Tatard, C., Boelens, W.C., Grongnet, J.F., David, J.C. (2003) Expression of small heat shock proteins HspB2, HspB8, Hsp20 and cvHsp in different tissues of the perinatal developing pig. *Eur. J. Cell Biol.*, **82**, 523–530.
54. Brinkmeier, H., Ohlendieck, K. (2014) Chaperoning heat shock proteins: proteomic analysis and relevance for normal and dystrophin-deficient muscle. *Proteomics Clin. Appl.*, **8**, 875–895. DOI: 10.1002/prca.201400015.
55. Doran, P., Martin, G., Dowling, P., Jockusch, H., Ohlendieck, K. (2006) Proteome analysis of the dystrophin-deficient MDX diaphragm reveals a drastic increase in the heat shock protein cvHSP. *Proteomics*, **6**, 4610–4621. DOI: 10.1002/pmic.200600082.
56. Doran, P., Wilton, S.D., Fletcher, S., Ohlendieck, K. (2009) Proteomic profiling of antisense-induced exon skipping reveals reversal of pathobiochemical abnormalities in dystrophic mdx diaphragm. *Proteomics*, **9**, 671–685. DOI: 10.1002/pmic.200800441.
57. Brocca, L., D'Antona, G., Bachi, A., Pellegrino, M.A. (2008) Amino acid supplements improve native antioxidant enzyme expression in the skeletal muscle of diabetic mice. *Am. J. Cardiol.*, **101**, 57E–62E. DOI: 10.1016/j.amjcard.2008.03.002.
58. Rudebusch, J., Benkner, A., Poesch, A., Dorr, M., Volker, U., Grube, K., Hammer, E., Felix, S.B. (2017) Dynamic adaptation of myocardial proteome during heart failure development. *PLoS ONE*, **12**, e0185915. DOI: 10.1371/journal.pone.0185915.
59. Chiu, T.F., Li, C.H., Chen, C.C., Chen, C.H., Cheng, C.J., Yan, Y.T., Yang, R.B. (2012) Association of plasma concentration of small heat shock protein B7 with acute coronary syndrome. *Circ. J.*, **76**, 2226–2233. DOI: 10.1253/circj.cj-12-0238.

60. Gonzalez-Muniesa, P., Marrades, M.P., Martinez, J.A., Moreno-Aliaga, M.J. (2013) Differential pro-inflammatory and oxidative stress response and vulnerability to metabolic syndrome in habitual high-fat young male consumers putatively predisposed by their genetic background. *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 17238–17255. DOI: 10.3390/ijms140917238.
61. Tobin, S.W., Yang, D., Girgis, J., Farahzad, A., Blais, A., McDermott, J.C. (2016) Regulation of Hspb7 by MEF2 and AP-1: implications for Hspb7 in muscle atrophy. *J. Cell Sci.*, **129**, 4076–4090. DOI: 10.1242/jcs.190009.
62. Mercer, E.J., Lin, Y.F., Cohen-Gould, L., Evans, T. (2018) Hspb7 is a cardioprotective chaperone facilitating sarcomeric proteostasis. *Dev. Biol.*, **435**, 41–55. DOI: 10.1016/j.ydbio.2018.01.005.
63. Vos, M.J., Zijlstra, M.P., Carra, S., Sibon, O.C., Kampinga, H.H. (2011) Small heat shock proteins, protein degradation and protein aggregation diseases. *Autophagy*, **7**, 101–103. DOI: 10.4161/auto.7.1.13935.
64. Kim, J., Aydemir, T.B., Jimenez-Rondan, F.R., Ruggiero, C.H., Kim, M.H., Cousins, R.J. (2020) Deletion of metal transporter Zip14 (Slc39a14) produces skeletal muscle wasting, endotoxemia, Mef2c activation and induction of miR-675 and Hspb7. *Scientific reports*, **10**, 4050. DOI: 10.1038/s41598-020-61059-2.
65. Esslinger, U., Garnier, S., Korniat, A., Proust, C., Kararigas, G., Muller-Nurasyid, M., Empana, J.P., Morley, M.P., Perret, C., Stark, K., Bick, A.G., Prasad, S.K., Kriebel, J., Li, J., Tiret, L., Strauch, K., O'Regan, D.P., Marguiles, K.B., Seidman, J.G., Boutouyrie, P., Lacolley, P., Jouven, X., Hengstenberg, C., Komajda, M., Hakonarson, H., Isnard, R., Arbustini, E., Grallert, H., Cook, S.A., Seidman, C.E., Regitz-Zagrosek, V., Cappola, T.P., Charron, P., Cambien, F., Villard, E. (2020) Correction: Exome-wide association study reveals novel susceptibility genes to sporadic dilated cardiomyopathy. *PLoS ONE*, **15**, e0229472. DOI: 10.1371/journal.pone.0229472.
66. Fang, X., Bogomolovas, J., Trexler, C., Chen, J. (2019) The BAG3-dependent and -independent roles of cardiac small heat shock proteins. *JCI insight*, **4**, e126464. DOI: 10.1172/jci.insight.126464.
67. Arrigo, A.P. (2017) Mammalian Hspb1 (Hsp27) is a molecular sensor linked to the physiology and environment of the cell. *Cell Stress Chaperones*, **22**, 517–529. DOI: 10.1007/s12192-017-0765-1.
68. Surya, S.L., Long, M.J.C., Urul, D.A., Zhao, Y., Mercer, E.J., IM, E.I., Evans, T., Aye, Y. (2018) Cardiovascular Small Heat Shock Protein HSPB7 Is a Kinetically Privileged Reactive Electrophilic Species (RES) Sensor. *ACS Chem. Biol.*, **13**, 1824–1831. DOI: 10.1021/acscchembio.7b00925.
69. Wiederholt, T., Heise, R., Skazik, C., Marquardt, Y., Jousen, S., Erdmann, K., Schroder, H., Merk, H.F., Baron, J.M. (2009) Calcium pantothenate modulates gene expression in proliferating human dermal fibroblasts. *Exp. Dermatol.*, **18**, 969–978. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2009.00884.x.
70. Juo, L.Y., Liao, W.C., Shih, Y.L., Yang, B.Y., Liu, A.B., Yan, Y.T. (2016) HSPB7 interacts with dimerized FLNC and its absence results in progressive myopathy in skeletal muscles. *J. Cell Sci.*, **129**, 1661–1670. DOI: 10.1242/jcs.179887.
71. Rosenfeld, G.E., Mercer, E.J., Mason, C.E., Evans, T. (2013) Small heat shock proteins Hspb7 and Hspb12 regulate early steps of cardiac morphogenesis. *Dev. Biol.*, **381**, 389–400. DOI: 10.1016/j.ydbio.2013.06.025.

72. Lahvic, J.L., Ji, Y., Marin, P., Zuflacht, J.P., Springel, M.W., Wosen, J.E., Davis, L., Hutson, L.D., Amack, J.D., Marvin, M.J. (2013) Small heat shock proteins are necessary for heart migration and laterality determination in zebrafish. *Dev. Biol.*, **384**, 166–180. DOI: 10.1016/j.ydbio.2013.10.009.
73. Zhu, Y., Zhu, J., Wan, X., Zhu, Y., Zhang, T. (2010) Gene expression of sHsps, Hsp40 and Hsp60 families in normal and abnormal embryonic development of mouse forelimbs. *Toxicol. Lett.*, **193**, 242–251. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.01.016.
74. Choi, M.R., Jung, K.H., Park, J.H., Das, N.D., Chung, M.K., Choi, I.G., Lee, B.C., Park, K.S., Chai, Y.G. (2011) Ethanol-induced small heat shock protein genes in the differentiation of mouse embryonic neural stem cells. *Arch. Toxicol.*, **85**, 293–304. DOI: 10.1007/s00204-010-0591-z.
75. Yang, Z., Zhuang, L., Szatmary, P., Wen, L., Sun, H., Lu, Y., Xu, Q., Chen, X. (2015) Upregulation of heat shock proteins (HSPA12A, HSP90B1, HSPA4, HSPA5 and HSPA6) in tumour tissues is associated with poor outcomes from HBV-related early-stage hepatocellular carcinoma. *International journal of medical sciences*, **12**, 256–263. DOI: 10.7150/ijms.10735.
76. Lin, J., Deng, Z., Tanikawa, C., Shuin, T., Miki, T., Matsuda, K., Nakamura, Y. (2014) Downregulation of the tumor suppressor HSPB7, involved in the p53 pathway, in renal cell carcinoma by hypermethylation. *Int. J. Oncol.*, **44**, 1490–1498. DOI: 10.3892/ijo.2014.2314.