

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ АДАПТЕРНЫЙ БЕЛОК Bag3 И МАЛЫЕ БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА

Обзор

© 2024 М.А. Замотина¹, Л.К. Муранова¹, А.И. Заболотский¹,
П.А. Тюрин-Кузьмин², К.Ю. Кулебякин², Н.Б. Гусев^{1,2*}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биохимии,
119991 Москва, Россия; электронная почта: nbgusev@mail.ru

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины, кафедра биохимии и регенеративной биомедицины,
119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 26.04.2024

После доработки 20.05.2024

Принята к публикации 24.05.2024

Белок Bag3 (Bcl-2 associated athanogene) содержит несколько доменов и взаимодействует с большим набором различных белков-партнёров, среди которых есть малые белки теплового шока (small heat shock proteins, sHsp) и белки теплового шока семейства Hsp70. Тройной комплекс Bag3-sHsp-Hsp70 связывает и переносит в фагосомы денатурированные белки и таким образом играет ключевую роль в процессе шаперон-зависимой селективной автофагии (chaperone assisted selective autophagy, CASA). Помимо этого, данный комплекс регулирует сборку стресс-гранул (гранулостаз) и обеспечивает регуляцию цитоскелета. Вследствие того, что Bag3 и белки теплового шока участвуют в различных клеточных процессах, мутации Bag3 и/или sHsp коррелируют с развитием нейродегенеративных заболеваний и кардиомиопатий. В данной работе анализируется роль sHsp в процессах, регулируемых Bag3.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Bag3, Hsp70, малые белки теплового шока, избирательная автофагия, протеостаз.

DOI: 10.31857/S0320972524090019 EDN: JKCXIN

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время внимание многих исследователей привлекают адаптерные белки, которые выступают в качестве своеобразных узлов, хабов, с которыми могут взаимодействовать сразу несколько белков. После связывания с белками-адаптерами белки-клиенты, в свою очередь, оказываются способными взаимодействовать с другими белковыми мишенями. Вследствие этого в клетке формируется ансамбль (своеобразный узел), в котором может быть сосредоточено много разных белков, влияющих на активность и свойства друг друга и образующих своеобразные поточные линии, по которым идёт синтез каких-либо метаболитов или происходит эффективная передача сигнала. Одним из таких адаптерных белков

является белок Bag3 (Bcl-2 associated athanogene). Белки семейства Bag вовлечены в регуляцию многочисленных и разнообразных процессов, происходящих в клетке, таких как апоптоз, контроль синтеза белка и качества правильного сворачивания полипептидных цепей, а также передача гормонального сигнала и многие другие жизненно важные процессы.

ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА Bag3

В геноме человека представлено 6 генов, кодирующих белки семейства Bag [1]. Аббревиатура Bag производится из сокращения «Bcl-2 associated athanogene» и обусловлена тем, что изначально эту группу белков рассматривали в качестве партнёров белков семейства Bcl (Bcl-2), важных антиапо-

* Адресат для корреспонденции.

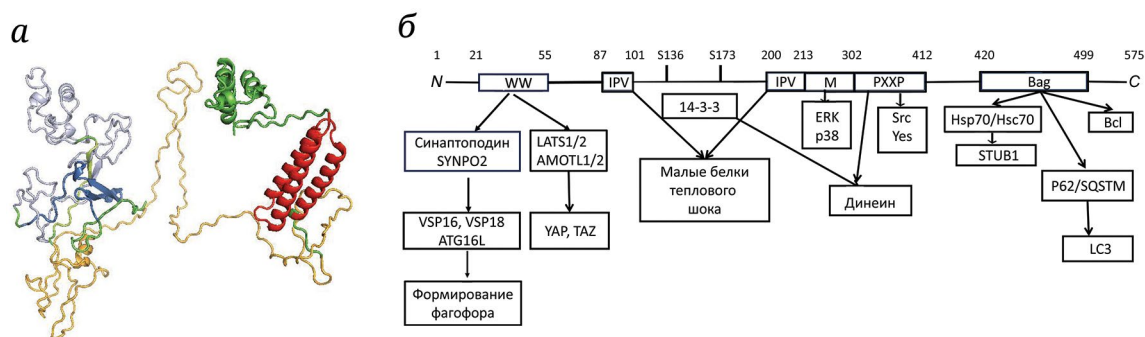


Рис. 1. Модель строения Bag3 PMDB (PN0083680) (а) и функциональные домены Bag3 (б). На панели а WW-домен обозначен тёмно-синим цветом, IPV-домен – сиреневым цветом, короткий М-домен – салатным цветом, длинный PXXP-домен – оранжевым цветом, Bag-домен – красным цветом. Участки структуры, не входящие в функциональные домены, обозначены зелёным цветом. На панели б приведена схема строения Bag3 с обозначением основных доменов и нумерацией аминокислотных остатков. WW-Домен взаимодействует с белками, содержащими полипролиновые последовательности, и обеспечивает связывание с синаптоподином (SYNPO) и протеинкиназами LATS1/2, регулирующими внутриклеточную локализацию коактиваторов транскрипции YAP и TAZ. Домен IPV содержит два участка связывания малых белков теплового шока (sHsp), а также участки, фосфорилирование которых обеспечивает связывание белка 14-3-3 и его взаимодействие с динеином. Домен М обеспечивает взаимодействие с протеинкиназами p38 и ERK, а домен PXXP может связывать белки, обладающие SH2-доменами, такие как Src и Yes. Bag-Домен связывается с антиапоптотическими белками семейства Bcl, а также белками теплового шока Hsp70/Hsc70. Этот домен обеспечивает обмен адениловых нуклеотидов на Hsp70/Hsc70. Hsp70, в свою очередь, связывается с убиквитинлигазой STUB1, обеспечивающей убиквитирование белков-мишеней. Помимо этого, Bag3 за счёт своего Bag-домена связывается и с рецептором автофагии p62/SQSTM, который взаимодействует с убиквитинированным белком-мишенью и расположенным на мембране фагосом белком LC3

птогических белков [1, 2]. Для белков, объединённых в семейство Bag, характерно наличие одного (или нескольких) консервативных Bag-доменов, состоящих из ~80–90 аминокислотных остатков и обеспечивающих взаимодействие этих белков с белками теплового шока Hsp70/Hsc70. Белки семейства Bag отличаются по своим размерам, набору функционально важных доменов, механизмам функционирования и тем процессам, в регуляции которых они принимают участие [2]. В этом обзоре мы ограничимся рассмотрением только одного представителя семейства этих белков, а именно белка Bag3, и лишь вскользь упомянем другого представителя этого семейства, Bag1.

Bag3 человека состоит из 575 аминокислотных остатков и преимущественно локализуется в цитозоле [1], хотя в скелетных мышцах и сердце часть Bag3 может быть связана с сократительным аппаратом в области Z-диска [3]. До последнего времени не было сведений о структуре полноразмерного Bag3, хотя удалось установить структуру Bag-домена (гомологичного для всех белков этого семейства) Bag1 в комплексе с Hsc70 [4]. Были проведены исследования, направленные на моделирование структуры полноразмерного Bag3, и была предложена модель, представленная в базе данных PMDB (PN0083680 [5], рис. 1, а). Согласно этой модели, большая часть молекулы Bag3 имеет не-

упорядоченную структуру и содержит лишь очень небольшое количество β -складок. Упорядоченную структуру имеет только Bag-домен, состоящий из трёх α -спиралей, а также α -спираль в С-концевой части Bag3 [5]. Можно с большим или меньшим доверием относиться к предсказаниям, однако предсказанная структура Bag-домена [5] и его структура, установленная рентгеноструктурным анализом [4], хорошо согласуются между собой. Как бы то ни было, как теоретические предсказания, так и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что большая часть структуры Bag3 мало упорядочена, что позволяет отнести этот белок к группе внутренне разупорядоченных (intrinsically disordered) белков и затрудняет как его кристаллизацию и рентгеноструктурный анализ, так и иные способы анализа структуры этого белка.

В составе Bag3 выделяют несколько функциональных доменов, каждый из которых участвует во взаимодействии с белками-партнёрами и может влиять на функционирование соседних доменов (рис. 1, б). На N-конце располагается так называемый WW-домен, обозначенный так, потому что содержит в своём составе два остатка триптофана (W), отделённых друг от друга 20–22 аминокислотными остатками. Этот домен взаимодействует с полипролиновыми мотивами (PPPY, PPSY),

Принятые сокращения: Bag3 – Bcl-2 associated athanogene; CASA – chaperone assisted selective autophagy, шаперон-зависимая селективная автофагия; sHsp – small heat shock proteins, малые белки теплового шока.

входящими в структуру нескольких белков, таких как синаптоподин (SYNPO2), протеинкиназы LATS1/2 и адаптерные белки AMOTL1/2 [6, 7]. Синаптоподин (SYNPO2) может взаимодействовать с белками автофагии VPS16, VPS18 и ATG16 [7, 8]. Таким образом, через синаптоподин Bag3 образует комплекс с белками, участвующими в формировании фагофора. Вероятно, именно поэтому подавление синтеза синаптоподина приводит к ингибированию зависимой от шаперонов селективной автофагии (CASA, chaperone-assisted selective autophagy) и ингибирует эффективное удаление фосфорилированного тау-белка в зрелых нейронах [9]. Протеинкиназы LATS1/2 также содержат в своей структуре полипролиновые мотивы, и при этом LATS1/2 способны фосфорилировать YAP и TAZ, выступающие в роли активаторов транскрипционных факторов [10, 11]. В состоянии покоя на WW-домене Bag3 собирается комплекс, состоящий из адаптерного белка AMOTL, протеинкиназы LATS и YAP/TAZ. Это делает возможным фосфорилирование YAP/TAZ под действием LATS. Фосфорилированные YAP/TAZ связываются с другим адаптерным белком 14-3-3 и либо удерживаются в цитозоле, либо подвергаются протеолитической деградации [12]. Таким образом, они не попадают в ядро и не могут активировать транскрипционные факторы TEAD1–4. При стрессе, сопряжённом с накоплением денатурированных и убиквитинированных белков, комплекс LATS–YAP/TAZ–AMOTL диссоциирует. Это предотвращает фосфорилирование YAP/TAZ, которые получают свободу перемещаться в ядро, где активируют транскрипционные факторы TEAD1–4 и инициируют транскрипцию определённых генов [12, 13]. Цепочка событий, состоящая в активации (или ингибировании) протеинкиназ LATS и последующем фосфорилировании факторов активации транскрипции, аналогична событиям, происходящим при функционировании регуляторной системы HYPPO, участвующей в процессах дифференцировки, передаче гормонального сигнала и регуляции межклеточных взаимодействий [11, 12, 14]. Любопытно отметить, что передача сигнала по пути HYPPO может регулироваться под действием механического стресса, возникающего при перемещении клеток в вязкой среде или в ходе сократительной активности. При этом высказывается предположение о том, что Bag3 может выступать в роли механосенсора, который обеспечивает передачу сигнала о механических воздействиях, используя описанную выше систему, связанную с фосфорилированием и транслокацией YAP/TAZ в клетке [15].

TSC1 (Tuberous Sclerosis Complex 1) может связываться с WW-доменом Bag3 за счёт своих PY-мотивов. В мышцах Bag3, расположенный на сокра-

тительном аппарате, связывает TSC1, который может активировать GTPазу малого G-белка RHEB. Этот белок, содержащий в своём составе GDP, ингибирует mTORC1 и таким образом тормозит синтез белка вблизи сократительного аппарата, не затрагивая при этом активность CASA, что приводит к избирательному протеолизу некоторых белков (например, таких как филамин). Одновременно с этим связывание TSC1 на сократительном аппарате уменьшает его концентрацию в цитозоле, вследствие чего mTORC1 цитозоля становится активным и способствует синтезу белка [16].

Вслед за WW-доменом в структуре Bag3 располагается так называемый IPV-домен (рис. 1, б). Судя по предсказаниям [5], он имеет неупорядоченную структуру и содержит только очень короткие β -складки. Такое название этот домен получил потому, что в его структуре есть две короткие последовательности, ограниченные остатками 87–101 и 200–213, содержащими в своём составе последовательности IPIPV и IPV1. Эти последовательности сходны с соответствующими последовательностями, расположенными на С-конце некоторых sHsp, таких как HspB1, HspB4, HspB5. Такие (I/V)P(I/V)-участки способны принимать участие в образовании контактов с гидрофобными канавками, образованными β 4- и β 8-складками α -кристаллиновых доменов sHsp, и, таким образом, играют важную роль в формировании крупных олигомеров sHsp [17–19]. Было высказано предположение о том, что IPV-мотивы Bag3 (так же как и соответствующие мотивы sHsp) могут взаимодействовать с гидрофобной канавкой, образованной β 4- и β 8-складками sHsp, и за счёт этого образовывать прочный комплекс с этими белками. Детали этого взаимодействия будут подробно проанализированы в следующем разделе.

Между двумя вышеупомянутыми IPV-мотивами располагаются остатки Ser136 и Ser173, которые могут подвергаться фосфорилированию, после чего становится возможным взаимодействие Bag3 с другим адаптерным белком, 14-3-3 [20, 21]. Этот белок может выступать в качестве адаптера, обеспечивающего связывание Bag3 с динеином, при этом оказывается, что Bag3 взаимодействует с динеином как за счёт 14-3-3, так и напрямую за счёт взаимодействия своего PXXP-домена [20] (рис. 1, а). Такое двухцентровое взаимодействие с динеином делает возможным перемещение Bag3 со всеми связанными с ним белками по микротрубочкам и доставку таких грузов до агрегосом, внутриклеточных центров накопления денатурированных белков, склонных к агрегации. Таким образом, IPV-домен содержит в своём составе важные элементы структуры и играет существенную роль в функционировании Bag3.

Мы более подробно обсудим детали механизма взаимодействия Bag3 с sHsp после описания остальных доменов Bag3.

В центре молекулы Bag3 располагаются так называемые М- и РХХР-домены [6] (рис. 1, б). В этих доменах локализованы участки связывания с различными протеинкиназами. Считается, что в М-домене возможно связывание протеинкиназ р38 и ERK, а в РХХР-домене происходит связывание тирозиновых киназ Yes и Src. Bag3 контролирует взаимодействие ERK с фосфатазой Dusp6, и удаление Bag3 сопровождается диссоциацией Dusp6, что приводит к перманентной активации ERK [22]. Нерецепторные тирозиновые киназы Src (и, вероятно, Yes) связываются с РХХР-доменом Bag3 за счёт своих SH3-доменов [23]. При этом связывание тирозиновых киназ с РХХР-доменом зависит от взаимодействия Bag3 с Hsp70, которое происходит по соседнему высококонсервативному Bag-домени [23]. При мощном протеотоксическом стрессе, т.е. при появлении большого количества денатурированных белков, Hsp70 «отвлекается» на взаимодействие с ними и может диссоциировать от Bag3, что будет влиять на связывание нерецепторных протеинкиназ с Bag3 и их внутриклеточную локализацию и активность.

Любопытно отметить, что, взаимодействуя с разными протеинкиназами, Bag3 может регулировать перемещение активаторов транскрипции из цитозоля в ядро. Как уже отмечалось ранее, при протеотоксическом, а также, вероятно, при механическом стрессе происходит диссоциация комплекса, образованного протеинкиназами LATS1/2 и активаторами транскрипции YAP/TAZ, связанными с доменом WW Bag3. Вследствие этого YAP/TAZ перестаёт фосфорилироваться LATS1/2 по остатку Ser127, становится неспособным взаимодействовать с 14-3-3 и транслоцируется из цитозоля в ядро [6]. Одновременно с этим связанная с РХХР-доменом Bag3 тирозиновая киназа фосфорилирует Tyr357 белка YAP, что ингибирует экспорт YAP из ядра и, таким образом, усиливает его транскрипционную активность [24].

Суммируя, можно заключить, что центральные М- и РХХР-домены Bag3 взаимодействуют и влияют на активность различных протеинкиназ, что делает Bag3 важным участником передачи гормонального сигнала. В этой связи следует отметить, что описанный выше HSP70-путь регуляции очень сложен и включает в себя функционирование большого количества различных протеинкиназ. Достаточно сказать, что активность LATS1/2 регулируется под действием протеинкиназы MST1 и комплекса Сальвадо 1 (SAV1). В то же время активность протеинкиназы MST1 зависит от её фосфорилирования, в котором могут принимать участие MAP-киназы (MAP4K), активность

которых находится под контролем гормонов [10]. Таким образом, Bag3 может опосредованно принимать участие в передаче гормонального сигнала, связанного с регуляцией активности нескольких протеинкиназ.

На С-конце Bag3 располагается консервативный Bag-домен, включающий в себя три длинных α -спирали (рис. 1, а). Этот домен обнаруживается у всех представителей белков семейства Bag и обеспечивает их взаимодействие с несколькими белками-партнёрами. Одним из таких важных партнёров является белок теплового шока Hsp70/Hsc70. Получены кристаллы Bag-домена Bag1 с белком теплового шока Hsc70 и установлено, что представители семейства Bag участвуют в обмене адениловых нуклеотидов в активном центре Hsp70/Hsc70 [4]. Bag1 и Bag3 могут конкурировать за связывание Hsp70 [20, 25, 26], и это может приводить к переключению путей деградации денатурированных белков. Комплекс Bag1-Hsp70, как правило, отправляет денатурированные белки на деградацию в протеасомы, в то время как комплекс Bag3-Hsp70 обеспечивает деградацию денатурированных белков в автофагосомах. Следует заметить, что протеасомной деградации в основном подвергаются изолированные белки или малые белковые комплексы, в то время как крупные агрегаты и органеллы подвергаются деградации в автофагосомах [27]. Автофагосомная и протеасомная системы сложным образом взаимодействуют между собой. Каждая из систем может участвовать в деградации компонентов другой системы и, таким образом, ингибировать её [27]. Однако, как правило, ингибирование одной из систем сопровождается компенсаторным усилением другой системы. При старении или при перегрузке протеасом происходит повышение уровня синтеза Bag3, что приводит к усилению процесса избирательной деградации денатурированных белков в автофагосомах [20, 25]. Обмен адениловых нуклеотидов в АТРазном центре является необходимым условием функционирования Hsp70. Поэтому Bag3, выступающий в качестве фактора обмена нуклеотидов, играет исключительно важную роль в регуляции активности Hsp70. Поскольку Bag3 образует прочные комплексы с Hsp70, повышение концентрации Bag3 (как это ни парадоксально) может приводить не к усилению, а, наоборот, к ослаблению шаперонной активности Hsp70. Это может быть связано с тем, что синтезируемый в больших количествах при хроническом стрессе (вызванном старением, перегрузкой протеасом, синтезом мутантных белков, склонных к агрегации) Bag3 образует прочные комплексы с Hsp70, что затрудняет обмен адениловых нуклеотидов и, таким образом, делает невозможным нормальное функционирование Hsp70,

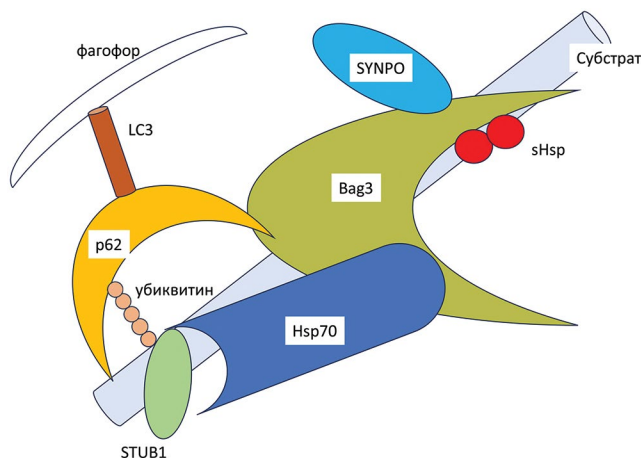


Рис. 2. Схема строения комплекса CASA. Белок-субстрат (голубой цилиндр) связан с HspB8 (два красных кружка) и с субстрат-связывающим центром Hsp70 (темно-синий). Hsp70 связывает убиквитинлигазу STUB1 (светло-зеленый овал), которая убиквитинирует субстрат (отмечено мелкими светло-коричневыми кружками). Bag3 (зеленый полумесяц) связывает рецептор фагосом p62 и через него прикрепляет белковый комплекс к LC3, расположенному на мембране фагосом. Помимо этого, Bag3 через свой WW-домен взаимодействует с SYNPO2 (светло-синий овал) и обеспечивает дополнительное прикрепление к белкам автофагосомного комплекса ATG16, VPS18/16 и к Z-дисульфидному миеофибриллу

ингибируя его шаперонную активность [28, 29]. В связи с тем, что Bag-домен играет исключительно важную роль в функционировании Bag3, мутации в этом домене зачастую коррелируют с развитием различных врожденных заболеваний, в том числе различных видов кардиомиопатий [13, 30].

На Bag3, как на подложке, может формироваться комплекс, состоящий из sHsp (связанных с IPV-мотивами) и Hsp70 (связанного с Bag-доменом). При этом белки теплового шока могут удерживать денатурированные белки-субстраты. Hsp70, связавшийся с Bag3, оказывается способным взаимодействовать с E3-убиквитинлигазой (STUB1). За счет своих тетратрикопептидных доменов STUB1 образует прочные комплексы с Hsp70 [13]. Таким образом, формируется комплекс, состоящий из Bag3, sHsp, Hsp70 и STUB1, который в своем составе содержит денатурированные белки-субстраты. При этом становится возможным убиквитинирование белка-субстрата под действием STUB1. Такой многокомпонентный белковый комплекс оказывается способным взаимодействовать с динеином и транспортируется к центру организации микротрубочек (МТОС) около ядерной мембраны. К этому комплексу добавляется рецепторный белок p62/SQSTM (белок секвестосом 1), который, в свою очередь, связывается с белком LC3 и участвует в образовании фагофора [7, 31–33].

После слияния фагофора с лизосомами завершается процесс CASA (рис. 2).

Bag-Домен не только участвует в связывании Hsp70, но и обеспечивает контакт Bag3 с антиапоптотическими белками семейства Bcl (Bcl2, Bcl-x_l, Mcl-1) [34]. Считается, что связывание с Bag3 стабилизирует белки семейства Bcl, что обеспечивает их высокий антиапоптотический эффект [35].

Суммируя все сказанное, можно заключить, что Bag3 является многодоменным белком, способным взаимодействовать с большим количеством различных белков-партнёров и участвовать в регуляции многочисленных клеточных процессов. Рассмотрим более подробно только один из доменов Bag3, а именно домен IPV, и участие этого домена во взаимодействии с sHsp, а также вовлечённость этого участка в другие процессы, регулируемые Bag3.

МАЛЫЕ БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА И Bag3

В геноме человека обнаружено 10 генов, кодирующих sHsp [36–38]. Мономеры sHsp содержат в своем составе консервативный α-кристаллиновый домен, включающий 80–100 аминокислотных остатков и фланкированный вариabельными по размеру и структуре N- и C-концевыми доменами. При этом некоторые sHsp, такие как HspB6, HspB7, HspB8, представлены в виде мономеров или малых олигомеров (димеров или тетрамеров) [39–41], в то время как другие sHsp, такие как HspB1, HspB4, HspB5, представлены в виде крупных олигомеров, в состав которых могут входить более 20 мономеров [42, 43]. sHsp, склонные к образованию крупных олигомеров, содержат в составе C-концевого домена так называемые (I/V)P(I/V)-мотивы [18]. Эти мотивы контактируют с гидрофобной канавкой, образованной β4–β8-складками соседнего мономера, и способствуют стабилизации крупных олигомеров sHsp [17, 19]. Как уже отмечалось ранее, в структуре Bag3 есть два участка, ограниченных остатками 87–101 и 200–213 и содержащих в своем составе так называемые IPV-мотивы (последовательности IPIPV и IPVI соответственно). Логичным было предположить, что IPV-домены Bag3 также будут взаимодействовать с соответствующей канавкой в α-кристаллиновом домене sHsp. Это предположение было проверено экспериментально. Используя мутантные формы HspB8 и Bag3, Fuchs et al. [44] установили, что удаление любого одного из двух IPV-участков Bag3 не влияет на его взаимодействие с HspB6 или HspB8, в то время как удаление обоих IPV-мотивов исключает такое взаимодействие. Кроме того, было установлено, что мутации в гидрофобной складке, образованной β4–β8-складками sHsp,

также препятствуют образованию комплекса этих белков с Bag3. В этой первой работе было также установлено, что только HspB6 и HspB8 способны прочно взаимодействовать с Bag3. В дальнейшем анализ взаимодействия sHsp и Bag3 был продолжен и расширен. С использованием метода титриметрической калориметрии было изучено взаимодействие Bag3 и его мутантных форм с HspB1, HspB5, HspB6 и HspB8 [45]. Было установлено, что наибольшим сродством ($K_d \sim 1,2$ мкМ) к Bag3 обладают HspB6 и HspB8, в то время как HspB1 и HspB5 обладали меньшим сродством ($K_d \sim 5-9$ мкМ). Определённое удивление вызывает тот факт, что стехиометрия связывания как sHsp, обладающих олигомерами малых размеров (HspB6 и HspB8), так и sHsp с большим размером олигомеров (HspB1, HspB5) оставалась постоянной и составляла 2 моль sHsp на моль Bag3 [45]. Вероятно, это возможно только в том случае, если Bag3 обладает очень высоким сродством к мономерам sHsp и способен «разбирать» большие олигомеры, извлекая из них мономеры. Именно такой эффект был обнаружен в работе Rauch et al. [45] при анализе взаимодействия HspB1 и Bag3. Сходное явление было обнаружено при исследовании взаимодействия HspB8 и Bag3 [46]. При высоких концентрациях HspB8 склонен формировать крупные комплексы, в которых мономеры слабо взаимодействуют между собой. Сродство Bag3 к HspB8 выше сродства между мономерами HspB8, поэтому Bag3 эффективно извлекает мономеры HspB8 из олигомеров. Любопытно отметить, что K_d комплекса HspB8–Bag3, измеренная в этой работе методом поверхностного плазмонного резонанса, колебалась в интервале 2,4–4,5 нМ, что было значительно меньше аналогичной константы, измеренной методом титриметрической калориметрии.

В литературе описано несколько мутаций остатка Pro209, расположенного во втором IPV-мотиве Bag3. При этом мутация P209L коррелирует с миофибриллярной миопатией, аксональной невропатией, болезнью Шарко–Мари–Тута второго типа и кардиомиопатией; мутация P209Q коррелирует с миофибриллярной миопатией и аксональной сенсомоторной невропатией; и, наконец, мутация P209S коррелирует с болезнью Шарко–Мари–Тута второго типа [30, 47]. При анализе взаимодействия Bag3 дикого типа и его мутантной формы (P209L) с α -кристаллиновым доменом HspB1 оказалось, что анализируемая мутация приводила примерно к трёхкратному увеличению константы диссоциации (от 0,45 мкМ до 1,8 мкМ) и двукратному уменьшению стехиометрии комплекса « α -кристаллиновый домен HspB1/Bag3» от 2 до 1 [48]. Анализ взаимодействия трёх мутантных форм Bag3 с точечными заменами Pro209 (P209/L,S,Q) с белками-партнёрами показал, что

указанная мутация ослабляет взаимодействие с sHsp, но на первых этапах не влияет на сборку комплекса CASA. Такой дефектный комплекс транспортируется динеином к МТОС. На заключительном этапе должно происходить образование фагофор и их слияние с лизосомами, чем в нормальных условиях заканчивается процесс автофагии. Оказалось, что в случае Bag3, мутантного по остатку Pro209, такой мультибелковый комплекс связывается с гистондеацетилазой 6 (HDAC6) и виментином и образует необычно сформированные стабильные, не поддающиеся разборке агрегаты, в которых оказываются имобилизованными как Hsp70, так и все другие белки, участвующие в процессе CASA. Вследствие этого затрудняется процесс избирательной автофагии и развиваются различные патологические процессы [3, 49]. Приведённые данные свидетельствуют о том, что мутация второго IPV-участка хотя и предотвращает связывание sHsp с этим участком в структуре Bag3, однако не влияет на первые этапы сборки CASA-комплекса и его транспортировку по микротрубочкам. В то же время мутация второго IPV-участка делает невозможным протекание заключительных этапов автофагии и иммобилизует компоненты CASA в составе не поддающихся разборке агрегатов. Таким образом, второй IPV-домен не только обеспечивает связывание sHsp, но и оказывает влияние на Bag-домен и нормальное функционирование всего комплекса CASA. В литературе описано две мутации (I94F и R90X), локализованные в первом IPV-мотиве [30]. Однако пока нет сведений о том, как эти мутации влияют на взаимодействие Bag3 с sHsp. Остаток 87 располагается вблизи первого IPV-домена Bag3 мыши. В опытах, проведённых на мышцах, ишемия артерий задних конечностей сопровождалась ишемической миопатией, проявления которой были более тяжёлыми, если животным вводили аденовирус, содержащий ДНК, кодирующую Bag3 с Met в положении 81, чем в случае, когда с помощью аденовируса вводили ДНК, кодирующую Bag3 дикого типа, в котором в этом положении находится остаток Ile [50], и при этом Bag3 с Ile в положении 81 лучше связывал HspB8, чем Bag3, в котором в положении 81 располагался Met. Эти данные свидетельствуют о том, что IPV-домен играет важную роль в функционировании Bag3. С этим выводом хорошо согласуется тот факт, что в IPV-домене Bag3 человека (остатки 55–213) обнаружено несколько точечных мутаций, коррелирующих с развитием дилатационной кардиомиопатии [13, 30].

Анализируя IPV-домен Bag3, естественно задаться вопросом: какие sHsp взаимодействуют с этим участком Bag3. Если исходная точка зрения верна и IPV-мотивы Bag3 действительно взаимо-

действуют только с гидрофобной канавкой, образованной β 4- и β 8-складками α -кристаллинового домена sHsp [44], то, учитывая высокую гомологию α -кристаллинового домена, можно было ожидать, что все sHsp будут взаимодействовать примерно с равным сродством. Тем не менее в ранних работах [44] было установлено, что наиболее прочно с Bag3 взаимодействуют HspB8 и HspB6, а HspB1 практически не связывается с Bag3. В то же время в более поздних исследованиях было установлено, что наибольшим сродством к Bag3 обладает изолированный кристаллиновый домен HspB1 [45]. Было высказано предположение о том, что специфичность взаимодействия определяется гидрофобностью складки, образованной β 4– β 8-складками кристаллиновых доменов sHsp [44], однако это предположение не получило экспериментального подтверждения.

Было обнаружено, что при точечной мутации HspB8 K141E, коррелирующей с дистальной моторной нейропатией, HspB8 располагается в автофагосомах, но они не колокализуются с лизосомами. В то же время HspB8 дикого типа располагается в автофагосомах, колокализованных с лизосомами [51]. Это может быть связано с тем, что мутация в β 6-складке HspB8 (относительно удалённой от гидрофобной канавки, образованной β 4- и β 8-складками) уменьшает сродство HspB8 к Bag3 [52, 53]. Таким образом, не только β 4- и β 8-складки, но и довольно отдалённые участки HspB8 могут играть важную роль во взаимодействии с Bag3. Недавно появились сведения о четырёх новых мутантных формах HspB8 со сдвигом рамки считывания. Сдвиг рамки считывания начинался со 170, 173, 176 или 194 аминокислотных остатков и приводил к синтезу HspB8 с существенно удлинёнными C-концевыми пептидами [54]. Такие мутантные формы HspB8 эффективно взаимодействовали с Bag3. Однако они обладали пониженной растворимостью как в изолированном виде, так и в составе комплексов с Bag3, что приводило к ингибированию процесса CASA и сопровождалось развитием дистальной миопатии с окаймлёнными везикулами (distal myopathy with rimmed vacuoles (DMRV)) [54].

Были предприняты попытки вычленить роль HspB8 в процессе автофагии на клеточном уровне. Для этого клетки обрабатывали ингибитором протеасом и наблюдали за накоплением и формированием агрегатов. Было установлено, что HspB8 влияет на взаимодействие Bag3 с белком p62/SQSTM1. При этом HspB8, вероятно, может регулировать фосфорилирование p62/SQSTM1 или его олигомерное состояние [55]. Как бы то ни было, HspB8 влияет на ранние стадии формирования микроагрегатов, которые на поздних этапах попадают в агрегосомы и подвергаются автофагии.

Таким образом, Bag3 и HspB8 кооперируют в процессах автофагии.

Для понимания механизмов процессов, в которых участвует Bag3, необходимо получить сведения о том, с какими партнёрами этот белок может взаимодействовать одновременно. В опытах *in vitro* было установлено, что Bag3 может одновременно взаимодействовать с Hsp70 и sHsp, образуя тройной комплекс Hsp70–Bag3–HspB8. Более того, HspB8 влиял на способность Bag3 регулировать АТРАЗную активность Hsp70 и увеличивал шаперонную активность комплекса Hsp70–Bag3 при использовании люциферазы в качестве модельного белка-субстрата [45]. Таким образом, представители двух семейств белков теплового шока (Hsp70 и sHsp) могут быть одновременно связаны с Bag3 и способны оказывать взаимное влияние. С этим заключением хорошо согласуются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что нокаут Bag3 или экспрессия точечной мутантной формы E455K, препятствующей взаимодействию мутированного Bag3 с Hsp70, приводили к уменьшению уровня sHsp, при этом наибольшее уменьшение наблюдалось для HspB6 и HspB8, наиболее прочно взаимодействующих с Bag3 [56, 57]. При этом, правда, следует заметить, что в сердцах трансгенных мышей с оверэкспрессией Bag3 уровень sHsp (HspB1 и HspB5) также уменьшался [58]. Авторы считают, что такой эффект ускорения обмена sHsp может быть связан с ускорением автофагии, в процессе которой происходит гидролиз некоторых sHsp. Вероятно, не стоит объединять и сравнивать данные, полученные с разными sHsp. Например, в первичной культуре астроцитов и в клетках глиобластомы человека гиперпродукция HspB5 сопровождалась накоплением агрегатов синуклеина [59]. Авторы объясняют этот неожиданный факт тем, что HspB5 может конкурировать с HspB8 за взаимодействие с Bag3 и таким образом ингибировать процесс автофагии, что приводит к накоплению агрегатов синуклеина. Таким образом, нельзя исключить возможности того, что разные sHsp способны конкурировать между собой и могут оказывать различное влияние на функционирование Bag3. С этим заключением хорошо согласуются экспериментальные данные, полученные при анализе агрегации фрагмента хантингтина, кодируемого ДНК с 43 CAG-повторами, в клетках разного происхождения [60]. Оказалось, что агрегация фрагмента хантингтина эффективно предотвращается комплексом, образованным Bag3 и HspB8. При этом HspB1 не оказывал никакого влияния на предотвращение агрегации. Любопытно отметить, что в этой работе предотвращение агрегации не зависело от присутствия Hsp70, из чего был сделан вывод о том, что в случае некоторых субстратов процесс авто-

фагии может обеспечиваться только HspB8 и Bag3 без участия Hsp70 [60, 61].

Боковой амиотрофический склероз связан с накоплением агрегатов различных белков. Среди этих белков присутствует продукт гена *C9ORF72*. АТГ-независимая транскрипция этого гена приводит к формированию на *N*-конце синтезируемого белка повторяющихся последовательностей аминокислот, кодируемых гексануклеотидной последовательностью G4C2. Эти короткие последовательности – поли(PA), поли(GP), поли(GR), поли(PR) или поли(GA) – приводят к агрегации таких модифицированных белков [62]. Работая на линии immortalized мотонейронов линии NSC32, Cristofani et al. показали, что такие модифицированные белки накапливаются в агрегатах, в состав которых входит p62/SQSTM1, и медленно подвергаются автофагии. Гиперпродукция HspB8 существенно уменьшала образование практически всех возможных типов агрегатов [62]. Боковой амиотрофический склероз может быть также связан с агрегацией некоторых РНК/ДНК-связывающих белков. TAR-ДНК-связывающий белок (TDP43), исходно располагающийся в ядре, способен подвергаться протеолизу с образованием фрагментов TDP25 и TDP35. Эти фрагменты утратили сигнал ядерной локализации и переходят из ядра в цитозоль, при этом являясь очень склонными к агрегации. Накопление агрегатов, содержащих эти белки, может быть причиной развития амиотрофического склероза. Повышение экспрессии HspB8 в immortalized мотонейронах предотвращает накопление агрегатов TDP25 и TDP35 [63]. Анализ экспериментальных данных, выполненный итальянскими учёными, показал, что повышение уровня синтеза HspB8 позволяет затормозить (или полностью предотвратить) накопление агрегатов TDP25, TDP43, мутированной супероксиддисмутазы, а также белков, несущих повторяющиеся дипептиды [64, 65]. Таким образом, HspB8 в комплексе с другими белками системы CASA оказывается способным защищать мотонейроны от накопления вредоносных белковых агрегатов. В этой связи высказывается предположение о том, что разработка и внедрение низкомолекулярных соединений, способствующих увеличению синтеза HspB8, могут быть перспективными для лечения многих нейродегенеративных заболеваний [64].

Стресс может вызывать формирование так называемых стресс-гранул, накапливающихся в цитозоле и образованных РНК и РНК-связывающими белками, такими как FUS, TIA-1 и hnRNPA1. Такие гранулы могут подвергаться разделению фаз и образуют своеобразные капли, лишённые какой-либо оболочки. В норме после окончания стресса эти стресс-гранулы разбираются, освобождая РНК. При патологии со стресс-гранулами могут связы-

ваться продукты неоконченного синтеза белка (или не полностью свёрнутые белки). Это меняет и делает более жёсткой структуру стресс-гранул, которые уже не могут подвергаться диссоциации и образуют опасные для жизнедеятельности клетки агрегаты, которые могут быть причиной развития нейродегенеративных заболеваний, таких как боковой амиотрофический склероз или фронтотемпоральная деменция [66]. Оказалось, что сразу после стресса HspB8 диссоциирует из комплекса Bag3–Hsp70 и переходит на стресс-гранулы, с которыми оказались связанными не до конца свёрнутые или денатурированные белки [66]. Связавшийся со стресс-гранулами HspB8 привлекает комплекс Bag3–Hsp70, тем самым иницируя и способствуя эффективному функционированию системы CASA. Любопытно отметить, что этот эффект присущ только HspB8 и не может быть реализован другими sHsp, в частности HspB1 [66].

В процессе митоза происходят значительные изменения цитоскелета и, в частности, изменения в структуре актиновых филаментов. При этом в ходе митоза происходит фосфорилирование Bag3 под действием циклин-зависимой протеинкиназы-1 [67], и он в комплексе с HspB8 и p62/SQSTM1 оказывается способным связывать белковый комплекс Arp2/3, регулирующий полимеризацию и ветвление нитей актина, а также гистондеацетилазу 6 типа (HDAC6), регулирующую активность другого актин-связывающего белка, кортактина [68]. Уменьшение уровня HspB8 и/или Bag3 сопровождается нарушением процесса митоза и накоплением двух- или многоядерных клеток [69]. Высказывается предположение о том, что многофункциональный Bag3 может взаимодействовать со многими белками-партнёрами и регулировать различные внутриклеточные активности. При этом после связывания с HspB8 активность Bag3 может переключаться с регуляции процессов автофагии на регуляцию активности цитоскелета [69]. Таким образом, система контроля качества белка (Protein Quality Control, PQC) не только предотвращает агрегацию белков и их избирательный протеолиз, но также может активно участвовать в контроле процессов полимеризации/деполимеризации актина и даже в ориентации веретена деления [70]. Любопытно отметить, что эта последняя активность зависит от HspB8 и p62/SQSTM1 и не зависит от Hsp70 [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Bag3 является универсальным адаптером, способным взаимодействовать с большим количеством различных белков-партнёров. В частности, Bag3 способен одновременно взаимодействовать

с белком теплового шока Hsp70/Hsc70 и разными sHsp. sHsp узнают и связывают неправильно упакованные или частично денатурированные белки, которые переносятся на Hsp70 и подвергаются убиквитированию под действием связанной с Hsp70 убиквитинлигазы STUB1. Комплекс, состоящий из убиквитированного белка-субстрата, Bag3, Hsp70 и sHsp, переносится с помощью динеина к центру организации микротрубочек, где взаимодействует с рецепторами автофагии p62/SQSTM1 и LC3 и формирует автофагосомы, которые позднее сливаются с лизосомами и обеспечивают так называемую селективную шаперон-зависимую автофагию (CASA). Состав комплекса не постоянен и может включать различный набор компонентов, зависящий от природы белка-субстрата, подвергающегося удалению. Достаточно противоречивые данные свидетельствуют о том, что практически все sHsp могут взаимодействовать с Bag3, однако все сходятся во мнении о том, что HspB8 является основным партнёром Bag3. В будущем представляется важным подробно проанализировать влияние различных sHsp на процессы, находящиеся под контролем Bag3. Мутации HspB8 или участков Bag3, отвечающих за связывание sHsp,

коррелируют с развитием нейродегенеративных заболеваний и/или кардиомиопатий и обусловлены нарушением функционирования системы CASA. Эта система не только участвует в избирательном удалении денатурированных белков, но также может играть важную роль в процессах гранулостаза и регуляции цитоскелета.

Вклад авторов. М.А. Замотина – сбор данных литературы; Л.К. Муранова и А.И. Заболоцкий – анализ данных литературы и редактирование; П.А. Тюрин-Кузьмин и К.Ю. Кулебякин – внесение дополнительных сведений и данных литературы по взаимодействию Bag3 с протеинкиназами; Н.Б. Гусев – написание текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 24-74-10008) и Программы развития МГУ (проект № 23-Ш04-34).

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

1. Takayama, S., and Reed, J. C. (2001) Molecular chaperone targeting and regulation by BAG family proteins, *Nat. Cell Biol.*, **3**, E237-E241, <https://doi.org/10.1038/ncb1001-e237>.
2. Kabbage, M., and Dickman, M. B. (2008) The BAG proteins: a ubiquitous family of chaperone regulators, *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 1390-1402, <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7535-2>.
3. Ruparelia, A. A., Oorschot, V., Vaz, R., Ramm, G., and Bryson-Richardson, R. J. (2014) Zebrafish models of BAG3 myofibrillar myopathy suggest a toxic gain of function leading to BAG3 insufficiency, *Acta Neuropathol.*, **128**, 821-833, <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1344-5>.
4. Sondermann, H., Scheufler, C., Schneider, C., Hohfeld, J., Hartl, F. U., and Moarefi, I. (2001) Structure of a Bag/Hsc70 complex: convergent functional evolution of Hsp70 nucleotide exchange factors, *Science*, **291**, 1553-1557, <https://doi.org/10.1126/science.1057268>.
5. Basu, S., Naha, A., Veeraraghavan, B., Ramaiah, S., and Anbarasu, A. (2022) In silico structure evaluation of BAG3 and elucidating its association with bacterial infections through protein-protein and host-pathogen interaction analysis, *J. Cell. Biochem.*, **123**, 115-127, <https://doi.org/10.1002/jcb.29953>.
6. Sherman, M. Y., and Gabai, V. (2022) The role of Bag3 in cell signaling, *J. Cell. Biochem.*, **123**, 43-53, <https://doi.org/10.1002/jcb.30111>.
7. Ulbricht, A., Eppler, F. J., Tapia, V. E., van der Ven, P. F., Hampe, N., Hersch, N., Vakeel, P., Stadel, D., Haas, A., Saftig, P., Behrends, C., Furst, D. O., Volkmer, R., Hoffmann, B., Kolanus, W., and Hohfeld, J. (2013) Cellular mechanotransduction relies on tension-induced and chaperone-assisted autophagy, *Curr. Biol.*, **23**, 430-435, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.064>.
8. Zheng, Z., and Song, Y. (2023) Synaptopodin-2: a potential tumor suppressor, *Cancer Cell Int.*, **23**, 158, <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03013-6>.
9. Ji, C., Tang, M., Zeidler, C., Hohfeld, J., and Johnson, G. V. (2019) BAG3 and SYNPO (synaptopodin) facilitate phospho-MAPT/Tau degradation via autophagy in neuronal processes, *Autophagy*, **15**, 1199-1213, <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1580096>.
10. Du, Y. (2024) The Hippo signalling pathway and its impact on eye diseases, *J. Cell. Mol. Med.*, **28**, e18300, <https://doi.org/10.1111/jcmm.18300>.
11. Veltrop, R. J. A., Kukk, M. M., Topouzidou, K., Didden, L., Muchir, A., van Steenbeek, F. G., Schurgers, L. J., and Harakalova, M. (2024) From gene to mechanics: a comprehensive insight into the mechanobiology

- of LMNA mutations in cardiomyopathy, *Cell Commun. Signal.*, **22**, 197, <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01546-5>.
12. Baldan, S., Meriin, A. B., Yaglom, J., Alexandrov, I., Varelas, X., Xiao, Z. J., and Sherman, M. Y. (2021) The Hsp70-Bag3 complex modulates the phosphorylation and nuclear translocation of Hippo pathway protein Yap, *J. Cell Sci.*, **134**, <https://doi.org/10.1242/jcs.259107>.
 13. Tedesco, B., Vendredy, L., Timmerman, V., and Poletti, A. (2023) The chaperone-assisted selective autophagy complex dynamics and dysfunctions, *Autophagy*, **19**, 1619-1641, <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2160564>.
 14. Baroja, I., Kyriakidis, N. C., Halder, G., and Moya, I. M. (2024) Expected and unexpected effects after systemic inhibition of Hippo transcriptional output in cancer, *Nat. Commun.*, **15**, 2700, <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46531-1>.
 15. Gunay, K. A., Silver, J. S., Chang, T. L., Bednarski, O. J., Bannister, K. L., Rogowski, C. J., Olwin, B. B., and Anseth, K. S. (2021) Myoblast mechanotransduction and myotube morphology is dependent on BAG3 regulation of YAP and TAZ, *Biomaterials*, **277**, 121097, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121097>.
 16. Kathage, B., Gehlert, S., Ulbricht, A., Ludecke, L., Tapia, V. E., Orfanos, Z., Wenzel, D., Bloch, W., Volkmer, R., Fleischmann, B. K., Furst, D. O., and Hohfeld, J. (2017) The cochaperone BAG3 coordinates protein synthesis and autophagy under mechanical strain through spatial regulation of mTORC1, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, **1864**, 62-75, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.10.007>.
 17. Delbecq, S. P., Jehle, S., and Klevit, R. (2012) Binding determinants of the small heat shock protein, alphaB-crystallin: recognition of the 'IxI' motif, *EMBO J.*, **31**, 4587-4594, <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.318>.
 18. Janowska, M. K., Baughman, H. E. R., Woods, C. N., and Klevit, R. E. (2019) Mechanisms of small heat shock proteins, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **11**, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034025>.
 19. Hilton, G. R., Hochberg, G. K., Laganowsky, A., McGinnigle, S. I., Baldwin, A. J., and Benesch, J. L. (2013) C-terminal interactions mediate the quaternary dynamics of alphaB-crystallin, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **368**, 20110405, <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0405>.
 20. Brenner, C. M., Choudhary, M., McCormick, M. G., Cheung, D., Landesberg, G. P., Wang, J. F., Song, J., Martin, T. G., Cheung, J. Y., Qu, H. Q., Hakonarson, H., and Feldman, A. M. (2023) BAG3: nature's quintessential multi-functional protein functions as a ubiquitous intra-cellular glue, *Cells*, **12**, <https://doi.org/10.3390/cells12060937>.
 21. Kogel, D., Linder, B., Brunschweiler, A., Chines, S., and Behl, C. (2020) At the crossroads of apoptosis and autophagy: multiple roles of the co-chaperone BAG3 in stress and therapy resistance of cancer, *Cells*, **9**, <https://doi.org/10.3390/cells9030574>.
 22. Falco, A., Festa, M., Basile, A., Rosati, A., Pascale, M., Florenzano, F., Nori, S. L., Nicolin, V., Di Benedetto, M., Vecchione, M. L., Arra, C., Barbieri, A., De Laurenzi, V., and Turco, M. C. (2012) BAG3 controls angiogenesis through regulation of ERK phosphorylation, *Oncogene*, **31**, 5153-5161, <https://doi.org/10.1038/onc.2012.17>.
 23. Colvin, T. A., Gabai, V. L., Gong, J., Calderwood, S. K., Li, H., Gummuluru, S., Matchuk, O. N., Smirnova, S. G., Orlova, N. V., Zamulaeva, I. A., Garcia-Marcos, M., Li, X., Young, Z. T., Rauch, J. N., Gestwicki, J. E., Takayama, S., and Sherman, M. Y. (2014) Hsp70-Bag3 interactions regulate cancer-related signaling networks, *Cancer Res.*, **74**, 4731-4740, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0747>.
 24. Smoot, R. L., Werneburg, N. W., Sugihara, T., Hernandez, M. C., Yang, L., Mehner, C., Graham, R. P., Bronk, S. F., Truty, M. J., and Gores, G. J. (2018) Platelet-derived growth factor regulates YAP transcriptional activity via Src family kinase dependent tyrosine phosphorylation, *J. Cell. Biochem.*, **119**, 824-836, <https://doi.org/10.1002/jcb.26246>.
 25. Minoia, M., Boncoraglio, A., Vinet, J., Morelli, F. F., Brunsting, J. F., Poletti, A., Krom, S., Reits, E., Kampinga, H. H., and Carra, S. (2014) BAG3 induces the sequestration of proteasomal clients into cytoplasmic puncta: implications for a proteasome-to-autophagy switch, *Autophagy*, **10**, 1603-1621, <https://doi.org/10.4161/auto.29409>.
 26. Rusmini, P., Cristofani, R., Galbiati, M., Cicardi, M. E., Meroni, M., Ferrari, V., Vezzoli, G., Tedesco, B., Messi, E., Piccolella, M., Carra, S., Crippa, V., and Poletti, A. (2017) The role of the heat shock protein B8 (HSPB8) in motoneuron diseases, *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, 176, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00176>.
 27. Limanaqi, F., Biagioni, F., Gambardella, S., Familiari, P., Frati, A., and Fornai, F. (2020) Promiscuous roles of autophagy and proteasome in neurodegenerative proteinopathies, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, <https://doi.org/10.3390/ijms21083028>.
 28. Hutt, D. M., Mishra, S. K., Roth, D. M., Larsen, M. B., Angles, F., Frizzell, R. A., and Balch, W. E. (2018) Silencing of the Hsp70-specific nucleotide-exchange factor BAG3 corrects the F508del-CFTR variant by restoring autophagy, *J. Biol. Chem.*, **293**, 13682-13695, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002607>.
 29. Roth, D. M., Hutt, D. M., Tong, J., Bouche-careilh, M., Wang, N., Seeley, T., Dekkers, J. F., Beekman, J. M., Garza, D., Drew, L., Masliah, E., Morimoto, R. I., and Balch, W. E. (2014) Modulation of the maladaptive stress response to manage diseases of protein folding, *PLoS Biol.*, **12**, e1001998, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001998>.

30. Lin, H., Koren, S. A., Cvetojevic, G., Girardi, P., and Johnson, G. V. W. (2022) The role of BAG3 in health and disease: A “Magic BAG of Tricks”, *J. Cell. Biochem.*, **123**, 4-21, <https://doi.org/10.1002/jcb.29952>.
31. Pankiv, S., Clausen, T. H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J. A., Outzen, H., Overvatn, A., Bjorkoy, G., and Johansen, T. (2007) p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy, *J. Biol. Chem.*, **282**, 24131-24145, <https://doi.org/10.1074/jbc.M702824200>.
32. Turco, E., Savova, A., Gere, F., Ferrari, L., Romanov, J., Schuschnig, M., and Martens, S. (2021) Reconstitution defines the roles of p62, NBR1 and TAX1BP1 in ubiquitin condensate formation and autophagy initiation, *Nat. Commun.*, **12**, 5212, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25572-w>.
33. Klimek, C., Kathage, B., Wordehoff, J., and Hohfeld, J. (2017) BAG3-mediated proteostasis at a glance, *J. Cell Sci.*, **130**, 2781-2788, <https://doi.org/10.1242/jcs.203679>.
34. Kirk, J. A., Cheung, J. Y., and Feldman, A. M. (2021) Therapeutic targeting of BAG3: considering its complexity in cancer and heart disease, *J. Clin. Invest.*, **131**, e149415, <https://doi.org/10.1172/JCI149415>.
35. Jacobs, A. T., and Marnett, L. J. (2009) HSF1-mediated BAG3 expression attenuates apoptosis in 4-hydroxynonenal-treated colon cancer cells via stabilization of anti-apoptotic Bcl-2 proteins, *J. Biol. Chem.*, **284**, 9176-9183, <https://doi.org/10.1074/jbc.M808656200>.
36. Fontaine, J. M., Rest, J. S., Welsh, M. J., and Benndorf, R. (2003) The sperm outer dense fiber protein is the 10th member of the superfamily of mammalian small stress proteins, *Cell Stress Chaperones*, **8**, 62-69, [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2003\)8<62:tsodfp>2.0.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2003)8<62:tsodfp>2.0.co;2).
37. Kappe, G., Franck, E., Verschuure, P., Boelens, W. C., Leunissen, J. A., and 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, [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2003\)8<53:thgecs>2.0.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2003)8<53:thgecs>2.0.co;2).
38. Mymrikov, E. V., Seit-Nebi, A. S., and Gusev, N. B. (2011) Large potentials of small heat shock proteins, *Physiol. Rev.*, **91**, 1123-1159, <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2010>.
39. Bukach, O. V., Seit-Nebi, A. S., Marston, S. B., and Gusev, N. B. (2004) Some properties of human small heat shock protein Hsp20 (HspB6), *Eur. J. Biochem.*, **271**, 291-302, <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2003.03928.x>.
40. Muranova, L. K., Shatov, V. M., Slushchev, A. V., and Gusev, N. B. (2021) Quaternary structure and hetero-oligomerization of recombinant human small heat shock protein HspB7 (cvHsp), *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 7777, <https://doi.org/10.3390/ijms22157777>.
41. Shatov, V. M., Weeks, S. D., Strelkov, S. V., and Gusev, N. B. (2018) The role of the arginine in the conserved N-terminal domain RLFDQxFG motif of human small heat shock proteins HspB1, HspB4, HspB5, HspB6, and HspB8, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, <https://doi.org/10.3390/ijms19072112>.
42. Braun, N., Zacharias, M., Peschek, J., Kastenmuller, A., Zou, J., Hanzlik, M., Haslbeck, M., Rappsilber, J., Buchner, J., and Weinkauff, S. (2011) Multiple molecular architectures of the eye lens chaperone alphaB-crystallin elucidated by a triple hybrid approach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20491-20496, <https://doi.org/10.1073/pnas.1111014108>.
43. Kaiser, C. J. O., Peters, C., Schmid, P. W. N., Stavropoulou, M., Zou, J., Dahiya, V., Mymrikov, E. V., Rockel, B., Asami, S., Haslbeck, M., Rappsilber, J., Reif, B., Zacharias, M., Buchner, J., and Weinkauff, S. (2019) The structure and oxidation of the eye lens chaperone alphaA-crystallin, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 1141-1150, <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0332-9>.
44. Fuchs, M., Poirier, D. J., Seguin, S. J., Lambert, H., Carra, S., Charette, S. J., and Landry, J. (2009) Identification of the key structural motifs involved in HspB8/HspB6-Bag3 interaction, *Biochem. J.*, **425**, 245-255, <https://doi.org/10.1042/BJ20090907>.
45. Rauch, J. N., Tse, E., Freilich, R., Mok, S. A., Makley, L. N., Southworth, D. R., and Gestwicki, J. E. (2017) BAG3 is a modular, scaffolding protein that physically links heat shock protein 70 (Hsp70) to the small heat shock proteins, *J. Mol. Biol.*, **429**, 128-141, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.11.013>.
46. Sciandrone, B., Ami, D., D'Urzo, A., Angeli, E., Relini, A., Vanoni, M., Natalello, A., and Regonesi, M. E. (2023) HspB8 interacts with BAG3 in a “native-like” conformation forming a complex that displays chaperone-like activity, *Protein Sci.*, **32**, e4687, <https://doi.org/10.1002/pro.4687>.
47. Selcen, D., Muntoni, F., Burton, B. K., Pegoraro, E., Sewry, C., Bite, A. V., and Engel, A. G. (2009) Mutation in BAG3 causes severe dominant childhood muscular dystrophy, *Ann. Neurol.*, **65**, 83-89, <https://doi.org/10.1002/ana.21553>.
48. Meister-Broekema, M., Freilich, R., Jagadeesan, C., Rauch, J. N., Bengoechea, R., Motley, W. W., Kuiper, E. F. E., Minoia, M., Furtado, G. V., van Waarde, M., Bird, S. J., Rebelo, A., Zuchner, S., Pytel, P., Scherer, S. S., Morelli, F. F., Carra, S., Weihl, C. C., Bergink, S., Gestwicki, J. E., et al. (2018) Myopathy associated BAG3 mutations lead to protein aggregation by stalling Hsp70 networks, *Nat. Commun.*, **9**, 5342, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07718-5>.
49. Adriaenssens, E., Tedesco, B., Mediani, L., Asselbergh, B., Crippa, V., Antoniani, F., Carra, S., Poletti, A., and Timmerman, V. (2020) BAG3 Pro209 mutants associated with myopathy and neuropathy relocate chaperones of the CASA-complex to aggresomes, *Sci. Rep.*, **10**, 8755, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65664-z>.

50. McClung, J. M., McCord, T. J., Ryan, T. E., Schmidt, C. A., Green, T. D., Southerland, K. W., Reinardy, J. L., Mueller, S. B., Venkatraman, T. N., Lascola, C. D., Keum, S., Marchuk, D. A., Spangenburg, E. E., Dokun, A., Annex, B. H., and Kontos, C. D. (2017) BAG3 (Bcl-2-associated athanogene-3) coding variant in mice determines susceptibility to ischemic limb muscle myopathy by directing autophagy, *Circulation*, **136**, 281-296, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024873>.
51. Kwok, A. S., Phadwal, K., Turner, B. J., Oliver, P. L., Raw, A., Simon, A. K., Talbot, K., and Agashe, V. R. (2011) HspB8 mutation causing hereditary distal motor neuropathy impairs lysosomal delivery of autophagosomes, *J. Neurochem.*, **119**, 1155-1161, <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07521.x>.
52. Shemetov, A. A., and Gusev, N. B. (2011) Biochemical characterization of small heat shock protein HspB8 (Hsp22)-Bag3 interaction, *Arch. Biochem. Biophys.*, **513**, 1-9, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.06.014>.
53. Carra, S., Boncoraglio, A., Kanon, B., Brunsting, J. F., Minoia, M., Rana, A., Vos, M. J., Seidel, K., Sibon, O. C., and Kampinga, H. H. (2010) Identification of the *Drosophila* ortholog of HSPB8: implication of HSPB8 loss of function in protein folding diseases, *J. Biol. Chem.*, **285**, 37811-37822, <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.127498>.
54. Tedesco, B., Vendredy, L., Adriaenssens, E., Cozzi, M., Asselbergh, B., Crippa, V., Cristofani, R., Rusmini, P., Ferrari, V., Casarotto, E., Chierichetti, M., Mina, F., Pramaggiore, P., Galbiati, M., Piccolella, M., Baets, J., Baeke, F., De Rycke, R., Mouly, V., Laurenzi, T., et al. (2023) HSPB8 frameshift mutant aggregates weaken chaperone-assisted selective autophagy in neuromyopathies, *Autophagy*, **19**, 2217-2239, <https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2179780>.
55. Guilbert, S. M., Lambert, H., Rodrigue, M. A., Fuchs, M., Landry, J., and Lavoie, J. N. (2018) HSPB8 and BAG3 cooperate to promote spatial sequestration of ubiquitinated proteins and coordinate the cellular adaptive response to proteasome insufficiency, *FASEB J.*, **32**, 3518-3535, <https://doi.org/10.1096/fj.201700558RR>.
56. Fang, X., Bogomolovas, J., Wu, T., Zhang, W., Liu, C., Veevers, J., Stroud, M. J., Zhang, Z., Ma, X., Mu, Y., Lao, D. H., Dalton, N. D., Gu, Y., Wang, C., Wang, M., Liang, Y., Lange, S., Ouyang, K., Peterson, K. L., Evans, S. M., et al. (2017) Loss-of-function mutations in co-chaperone BAG3 destabilize small HSPs and cause cardiomyopathy, *J. Clin. Invest.*, **127**, 3189-3200, <https://doi.org/10.1172/JCI94310>.
57. Fang, X., Bogomolovas, J., Trexler, C., and Chen, J. (2019) The BAG3-dependent and -independent roles of cardiac small heat shock proteins, *JCI Insight*, **4**, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.126464>.
58. Inomata, Y., Nagasaka, S., Miyate, K., Goto, Y., Hino, C., Toukairin, C., Higashio, R., Ishida, K., Saino, T., Hirose, M., Tsumura, H., and Sanbe, A. (2018) Bcl-2-associated athanogene 3 (BAG3) is an enhancer of small heat shock protein turnover via activation of autophagy in the heart, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **496**, 1141-1147, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.01.158>.
59. Lu, S. Z., Guo, Y. S., Liang, P. Z., Zhang, S. Z., Yin, S., Yin, Y. Q., Wang, X. M., Ding, F., Gu, X. S., and Zhou, J. W. (2019) Suppression of astrocytic autophagy by alphaB-crystallin contributes to alpha-synuclein inclusion formation, *Translat. Neurodegener.*, **8**, 3, <https://doi.org/10.1186/s40035-018-0143-7>.
60. Carra, S., Seguin, S. J., Lambert, H., and Landry, J. (2008) HspB8 chaperone activity toward poly(Q)-containing proteins depends on its association with Bag3, a stimulator of macroautophagy, *J. Biol. Chem.*, **283**, 1437-1444, <https://doi.org/10.1074/jbc.M706304200>.
61. Li, F., Xiao, H., Hu, Z., Zhou, F., and Yang, B. (2018) Exploring the multifaceted roles of heat shock protein B8 (HSPB8) in diseases, *Eur. J. Cell Biol.*, **97**, 216-229, <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2018.03.003>.
62. Cristofani, R., Crippa, V., Vezzoli, G., Rusmini, P., Galbiati, M., Cicardi, M. E., Meroni, M., Ferrari, V., Tedesco, B., Piccolella, M., Messi, E., Carra, S., and Poletti, A. (2018) The small heat shock protein B8 (HSPB8) efficiently removes aggregating species of dipeptides produced in C9ORF72-related neurodegenerative diseases, *Cell Stress Chaperones*, **23**, 1-12, <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0806-9>.
63. Crippa, V., Cicardi, M. E., Ramesh, N., Seguin, S. J., Ganassi, M., Bigi, I., Diacci, C., Zelotti, E., Baratashvili, M., Gregory, J. M., Dobson, C. M., Cereda, C., Pandey, U. B., Poletti, A., and Carra, S. (2016) The chaperone HSPB8 reduces the accumulation of truncated TDP-43 species in cells and protects against TDP-43-mediated toxicity, *Hum. Mol. Genet.*, **25**, 3908-3924, <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw232>.
64. Crippa, V., D'Agostino, V. G., Cristofani, R., Rusmini, P., Cicardi, M. E., Messi, E., Loffredo, R., Pancher, M., Piccolella, M., Galbiati, M., Meroni, M., Cereda, C., Carra, S., Provenzani, A., and Poletti, A. (2016) Transcriptional induction of the heat shock protein B8 mediates the clearance of misfolded proteins responsible for motor neuron diseases, *Sci. Rep.*, **6**, 22827, <https://doi.org/10.1038/srep22827>.
65. Crippa, V., Galbiati, M., Boncoraglio, A., Rusmini, P., Onesto, E., Giorgetti, E., Cristofani, R., Zito, A., and Poletti, A. (2013) Motoneuronal and muscle-selective removal of ALS-related misfolded proteins, *Biochem. Soc. Trans.*, **41**, 1598-1604, <https://doi.org/10.1042/BST20130118>.
66. Ganassi, M., Mateju, D., Bigi, I., Mediani, L., Poser, I., Lee, H. O., Seguin, S. J., Morelli, F. F., Vinet, J., Leo, G., Pansarasa, O., Cereda, C., Poletti, A., Alberti, S., and Carra, S. (2016) A surveillance function of the HSPB8-

- BAG3-HSP70 chaperone complex ensures stress granule integrity and dynamism, *Mol. Cell*, **63**, 796-810, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.07.021>.
67. Luthold, C., Lambert, H., Guilbert, S. M., Rodrigue, M. A., Fuchs, M., Varlet, A. A., Fradet-Turcotte, A., and Lavoie, J. N. (2021) CDK1-mediated phosphorylation of BAG3 promotes mitotic cell shape remodeling and the molecular assembly of mitotic p62 bodies, *Cells*, **10**, <https://doi.org/10.3390/cells10102638>.
68. Luthold, C., Varlet, A. A., Lambert, H., Bordeleau, F., and Lavoie, J. N. (2020) Chaperone-assisted mitotic actin remodeling by BAG3 and HSPB8 involves the deacetylase HDAC6 and its substrate cortactin, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, <https://doi.org/10.3390/ijms22010142>.
69. Varlet, A. A., Fuchs, M., Luthold, C., Lambert, H., Landry, J., and Lavoie, J. N. (2017) Fine-tuning of actin dynamics by the HSPB8-BAG3 chaperone complex facilitates cytokinesis and contributes to its impact on cell division, *Cell Stress Chaperones*, **22**, 553-567, <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0780-2>.
70. Fuchs, M., Luthold, C., Guilbert, S. M., Varlet, A. A., Lambert, H., Jette, A., Elowe, S., Landry, J., and Lavoie, J. N. (2015) A role for the chaperone complex BAG3-HSPB8 in actin dynamics, spindle orientation and proper chromosome segregation during mitosis, *PLoS Genet.*, **11**, e1005582, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005582>.

UNIVERSAL ADAPTER PROTEIN Bag3 AND SMALL HEAT SHOCK PROTEINS

Review

**M. A. Zamotina¹, L. K. Muranova¹, A. I. Zabolotskii¹, P. A. Tyurin-Kuzmin²,
K. Yu. Kulebyakin², and N. B. Gusev^{1,2*}**

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
119991 Moscow, Russia; e-mail: nbgusev@mail.ru

² Department of Biochemistry and Regenerative Biomedicine, Faculty of Fundamental Medicine,
Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

Bag3 (Bcl-2 associated athanogene) protein contains several functional domains and interacts with a number of different protein-partners among which are small heat shock proteins (sHsp) and heat shock proteins of Hsp70 family. Triple complex Bag3-sHsp-Hsp70 binds and transports to phagosomes denatured proteins and thus plays key role in chaperone assisted selective autophagy (CASA). In addition, this complex regulates formation and pathway of stress-granules (granulostasis) and participates in cytoskeleton regulation. Since Bag3 and small heat shock proteins participate in many cellular processes mutations of these proteins are often correlate with neurodegenerative diseases and cardiomyopathies. Probable role of sHsp in Bag3 dependent processes is analyzed.

Keywords: Bag3, Hsp70, small heat shock proteins, selective autophagy, proteostasis