

Низькомолекулярні білки теплового шоку рослин

О. С. Талалаєв

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України
Вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

E-mail: cell@svitonline.com

Низькомолекулярні білки теплового шоку (sHsp) продукуються як в еукаріотній, так і прокаріотній клітині у відповідь на дію високої температури. Особливе значення sHsp для рослини підтверджується їхньою різноманітністю. Ідентифіковано шість класів рослинних sHsp. Усі вони індуються і при інших стресових впливах, а деякі ще й на певних стадіях розвитку. Значення sHsp полягає у формуванні стійкості до стресів. Функції sHsp як молекулярних шаперонів підтверджено in vivo та in vitro. Представлений огляд сумує загальні знання щодо експресії генів, молекулярної структури і функцій sHsp рослин.

Ключові слова: білки теплового шоку, шаперони.

Вступ. У відповідь на тепловий стрес клітини всіх еукаріотів синтезують групу білків з молекулярною масою від 15 до 42 кДа, які отримали назву низькомолекулярних білків теплового шоку (small heat shock proteins, sHsp) [1]. Для рослин характерною є надзвичайна різноманітність sHsp, обумовлена необхідністю швидкої адаптації до різних змін умов довкілля, зокрема, таких як підвищення температури та інтенсивність освітлення, зміна вологості тощо. За подібністю послідовностей ДНК, імунологічною реактивністю та внутрішньоклітинною локалізацією sHsp поділяють на шість класів [2, 3]. sHsp у вегетативних тканинах за нормальних умов росту не детектуються, але можуть бути індювані під дією зовнішніх стимулів і змін, викликаних різними процесами онтогенезу. Кореляція між синтезом sHsp та відповіддю на стрес стала приводом для створення гіпотези щодо захисту низькомолекулярними білками теплового шоку клітинних компонентів від руйнівного впливу стресу. Механізм, за яким sHsp працюють як клітинні протектори, ще повністю не з'ясований, але чітко визначено, що sHsp здатні виконувати функцію шаперонів, тобто зв'язувати частково денатуровані білкові субстрати, запобігаючи їхній незворотній

агрегації та спрямовуючи субстратний фолдинг [3–7].

Класи рослинних sHsp і їхня структура. Частина низькомолекулярних рослинних білків теплового шоку з молекулярною масою від 15 до 42 кДа під час теплового стресу складає до 1 % від загального вмісту білка, це можна помітити за допомогою денатурувального гель-електрофорезу [2, 8, 9]. Аналіз комплексу sHsp *Arabidopsis thaliana* показав, що її геном містить 19 рамок зчитування, які кодують sHsp. Усі sHsp кодуються ядерними родинними генами та об'єднуються у шість класів [3]. Три класи (CI, CII, CIII) sHsp локалізуються у цитозолі або в нуклеоплазмі [3, 10], а інші три розміщені у клітинних компартментах: пластидах (P) [10], ендоплазматичному ретикулімі (ER) [11, 12] і мітохондріях (M) [13–15]. Саме наявність органельних форм sHsp є унікальною ознакою рослинної клітини, яка зазнала стресового впливу. Класи CI і CII цитозольно-нуклеарних sHsp кодуються мультигенними родинними [10]. Всередині кожного класу різні представники мають високий ступінь гомології амінокислотних послідовностей. sHsp багатьох видів рослин у межах певного класу також подібні, але гомологія між представниками різних класів низька [2, 3, 10, 16].

Спільною рисою усіх рослинних sHsp є консервативний домен, який складається приблизно з 90—100 амінокислотних залишків та називається α -кристаліновим доменом (АКД) [3, 10]. Він розташований у С-кінцевій ділянці молекули білка і отримав назву через подібність до α -кристалінів — білків кристалика ока хребетних тварин. Наявність АКД вирізняє sHsp з-поміж інших білків, що індукуються температурним стресом. Він утворений двома консенсусними доменами, розділеними гідрофільним доменом варіабельної довжини [17]. Амінотермінальні домени доволі дивергентні, хоча унікальні консенсусні домени у представників окремих класів як цитозольних, так і локалізованих в органелах sHsp подібні (рис. 1).

Рослинні sHsp можуть утворювати гомоолігомери з молекулярною масою від 200 до 350 кДа [2, 11, 13, 18—22]. Субодиниці контактують через С-кінці АКД, формуючи третинні структури олігомерних комплексів. Зазвичай рослинні sHsp складаються з 12 субодиниць [21, 24].

Гетероолігомерні комплекси утворюються між представниками різних класів sHsp як *in vivo*, так *in vitro*. Так, наприклад, гетероолігомери варіабельної молекулярної маси формують представники різних класів sHsp *Pisum sativum*: PsHsp17.1 і PsHsp18.1, які належать до класів СІІ та СІ відповідно [24]. Тобто можна зробити висновок, що і С-кінцева ділянка АКД, і амінотермінальна область можуть містити інформацію, необхідну для формування олігомерних структур [21—23].

Олігомерна структура являє собою додекамеричний подвійний диск (рис. 2), модель якого вперше опубліковано у роботі [25]. Кожен диск містить шість АКД, організованих у тример, кожна грань якого складається з димерів. Димери являють собою блоки для олігомерної структури і це також є особливістю рослинних sHsp.

Формування великих олігомерних структур та конформаційні зміни пов'язані з шапероновою активністю низькомолекулярних білків теплового шоку. *In vitro* шаперонова активність мономерів *Nicotiana tabacum* NtHsp18 нижча за таку олігомерних форм, що підтверджується відповідним рівнем агрегації досліджуваних білків [26].

Унікальною особливістю рослинних sHsp є також здатність під час довготривалого температурного стресу утворювати так звані гранули теплового шоку (heat shock granules, HSG) діаметром приблизно 40 нм, які представлені у цитоплазмі

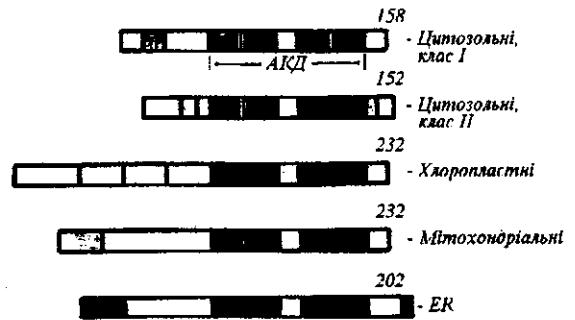


Рис. 1. Схематичне зображення будови рослинних sHsp різних класів. Цифрами позначено середню довжину в амінокислотних залишках. АКД — α -кристаліновий домен; ER — ендоплазматичний ретикулум

денатурованими протеїнами, зв'язаними з sHsp. Комплекс денатурованого білка з олігомером sHsp дезінтегрує протягом періоду відновлення нормального стану клітини. Гранули теплового шоку можуть у свою чергу об'єднуватися у великі цитозольні шаперонові комплекси. Останні містять переважно цитозольні sHsp обох класів — СІ, СІІ [27—30] та фактори теплового шоку (heat shock transcription factors, HSF) — HSFA2 [31].

С-кінцевий домен sHsp класу СІІ та формування додекамерів є обов'язковою умовою агрегації цих білків та включення білків класу СІІ у гранули теплового шоку, утворення яких індукуються температурою [24].

Експресія рослинних sHsp. За нормальних умов більшість sHsp у вегетативних тканинах не детектуються, проте швидко продукуються у відповідь на температурний стрес. Відхилення температури приблизно на 10—15 °С від нормальної температури росту, але в межах летальної норми, спричинює відповідь на тепловий стрес. Кількість накопичених sHsp залежить від температури і тривалості стресового періоду [32]. Після закінчення впливу пошкоджуючих факторів і відновлення нормальних умов sHsp виявляються в клітині упродовж ще 30—50 год [8, 33], тому передбачається, що наявність sHsp є важливим фактором відновлення [2].

Експресію генів sHsp та білковий синтез запускає не лише тепловий стрес (таблиця). Певні sHsp накопичуються у відповідь на осмотичний стрес. Експресія генів *HaHsp17.6* (клас СІ) та *HaHsp17.9* (клас СІІ) індукуються у вегетативних органах соняшнику у відповідь на водний стрес і рівень мРНК корелює безпосередньо зі ступенем дегідратації клітини [34, 35]. *HaHsp17.9*-СІІ виявляються

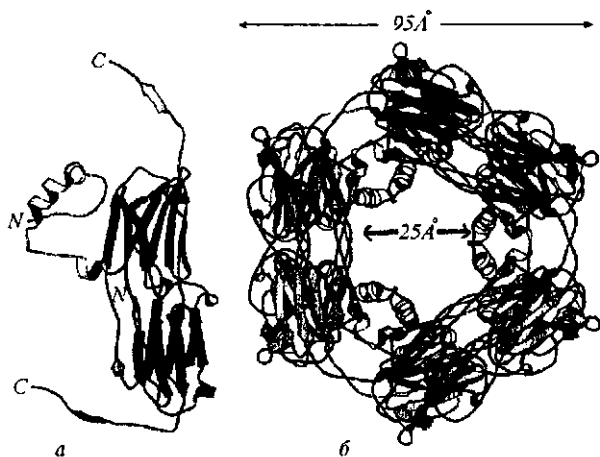


Рис. 2. Димер TaHsp 16.9aA-CI (а) (мономери у двох окремих конформаціях забарвлені у чорний і сірий кольори; N — амінотермінальна ділянка; C — COOH кінцевий домен) та олігомер TaHsp 16.9aA-CI (б) (всередині додекамеру димери розташовані у двох коаксіальних кільцях; якщо поділити кільце навпіл горизонтальною віссю, верхня частина містить три димери, позначення відповідні до зазначених вище; C-термінальні кінці беруть участь у поднанні двох кілець)

у стеблах і коренях під дією манітолу та абсцизової кислоти [36].

Цитозольні sHsp у *Craterostigma plantagineum*, гомологічні HaHsp17.6-CI і HaHsp17.9-CII, накопичуються конститутивно, проте у чутливих до висушування калюсах з'являються лише після зовнішньої обробки абсцизовою кислотою [37]. Рівень цих білків теплового шоку надалі зростає у відповідь на висушування, що передбачає їхню необхідність для розвитку стійкості до зневоднення та індуктивне реагування на обробку абсцизовою кислотою відповідних генів. Генами, що індукуються у відповідь на осмотичний стрес, є *AtHsp17.7-CII* і *AtHsp17.6-CII* (попередня номенклатура *AtHsp17.6A* і *AtHsp17.6-II* [38]) *A. thaliana* і *QsHsp17* (клас CI) у клітинах саджанців дубу.

Оксидним стресом індукуються підкласи цитозольних CI і CII [38, 39], мітохондріальних [40] і хлоропластних sHsp [41]. Деякі гени низькомолекулярних білків теплового шоку також індукуються холодним стресом [42], впливом важких металів [43], озону [44], ультрафіолетовим [39] та у-випромінюванням [40]. Дані цих спостережень дозволяють стверджувати, що sHsp пов'язані з загальною відповіддю рослини на вплив абіотичного фактора (таблиця).

За відсутності стресових впливів доквілля рос-

линні sHsp продукуються на окремих стадіях розвитку, таких як ембріогенез, проростання, розвиток пилку та дозрівання плодів. Зріле насіння резистентне до дегідратації. У зародках *Arabidopsis* цитозольні AtHsp17.4-CII, AtHsp17.6-CII (попередня назва At-HSP17.4 і At-HSP17.6) та AtHsp17.7-CII починають накопичуватися на початкових стадіях ембріогенезу, досягаючи максимального вмісту на завершальних етапах дозрівання та в сухому насінні [38, 45]. У гороху і соняшнику представники обох класів цитозольних sHsp з'являються у зародках під час синтезу запасальних речовин і акумулюються у великій кількості в зрілому насінні [36, 37, 46]. Накопичення sHsp у процесі дозрівання насіння дозволяє припустити, що вони виконують функцію захисту клітинних компонентів від висушування [45]. Ця гіпотеза підтверджується подальшими дослідженнями кореляції невеликих кількостей sHsp у чутливих до висушування мутантах. У насінні чутливих до висушування мутантів *abi3-6* експресія і накопичення AtHsp17.4-CI, AtHsp17.6-CI і AtHsp17.7-CII відсутні [38, 45, 48]. Подібна редукція не пов'язана з дефектами в ембріогенезі, що підтверджується накопиченням AtHsp17.4-CI до рівня дикого типу у мутантів *lec2-1* і *emb266*, які мають дефекти ембріогенезу та стійкі до висушування, а також відсутністю накопичення у *fus3-3*, *lec1-2*, які є дефектними в ембріогенезі і чутливими до висушування [48].

Гени sHsp експресуються під контролем факторів теплового шоку [49, 50], які розпізнають так звані елементи теплового шоку (heat shock elements, HSE), — послідовності, розташовані в 5'-ділянках, які не транскрибуються. Ці послідовності містять неодноразово повторюваний елемент пGAAn- [52, 53]. У рослинах оптимальний HSE включає консенсусну послідовність 5'-аGAAg-3' [54]. Три регуляторних компоненти послідовності 5'-пGAAnпTTCnnGAAn-3' визначено як такі, що необхідні для ефективного зв'язування HSF [50]. За нормальних умов HSF перебувають у клітині в латентному стані, але під впливом температури вони тримеризуються і, таким чином, активуються, набувають спорідненості з ділянками ДНК, які відповідно стають транскрипційно активними [49].

Обидва можливих механізми (залежний і незалежний від HSE) беруть участь у продукуванні sHsp під час розвитку [55]. Дослідження промотору показало, що проксимальні ділянки HSE необхідні для забезпечення транскрипційної актив-

Експресія низькомолекулярних білків теплового шоку рослин

Умови	Вид рослин	Назва гена і клас
Розвиток зародка	<i>Helianthus annuus</i>	<i>HaHsp17.6-CI</i> <i>HaHsp17.6-CII</i>
	<i>Pisum sativum</i>	<i>PsHsp18.1-CI</i> <i>PsHsp18.1-CII</i>
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHsp17.4-CI</i> , <i>AtHsp17.6-CI</i> <i>AtHsp17.7-CII</i>
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>LpHsp17.7-CI</i> <i>LpHsp17.3-CII</i>
Проростання насіння	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHsp17.4-CI</i> , <i>AtHsp17.6-CI</i> <i>AtHsp17.7-CII</i> , <i>AtHsp17.6-CII</i>
	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	кДНК DF4-5 (клас CI)
	<i>Hordeus vulgare</i>	<i>HvHsp26.8-P</i> , <i>HvHsp26.9-P</i>
Соматичний ембріогенез	<i>Medicago sativa</i>	<i>Hsp18.1</i> (клас CI) <i>MsHsp18.2-CI</i>
	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>NtHsp18-CI</i>
Утворення пилку	<i>Lilium</i>	кДНК, гомологічна sHsp (клас CI)
	<i>Zea mays</i>	<i>ZmHsp17-CII</i>
	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>NtHsp18-CI</i>
Дозрівання плодів	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>LpHsp17.7-CI</i> <i>LpHsp17.3-CII</i> <i>LeHsp23.8-P</i> <i>TOM111</i> (клас P)
	<i>Helianthus annuus</i>	<i>HaHsp17.6-CI</i> <i>HaHsp17.9-CII</i>
	<i>Quercus suber</i>	<i>QsHsp17-CI</i>
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHsp17.7-CII</i> , <i>AtHsp17.6-CII</i>
Абсцизова кислота	<i>Helianthus annuus</i>	<i>HaHsp17.6-CI</i> <i>HaHsp17.6-CI</i>
Оксидний стрес	<i>Quercus suber</i>	<i>QsHsp17-CI</i>
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Hsp22</i> (клас M)
	<i>Petroselinum crispum</i>	<i>Hsp17.9</i> (клас CI)
	<i>Oriza sativa</i>	<i>OsHsp26.6-P</i>
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHsp17.7-CII</i>
Холод	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>C119</i> (клас ER)
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>TOM66</i> (клас CI) <i>TOM111</i> (клас P) / <i>LeHsp23.8-P</i>
	<i>Morus bombycis</i>	<i>WAP20</i> (клас ER)
	<i>Castanea sativa</i>	<i>CsHsp17.5-CI</i>
Вплив важких металів	<i>Medicago sativa</i>	<i>MsHsp18.1</i> (клас CI) <i>MsHsp18.2-C</i>
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHsp17.7-CII</i> , <i>AtHsp17.6-CII</i>
	<i>Pharbitis nil</i>	<i>sHsp-1</i> (клас CII)

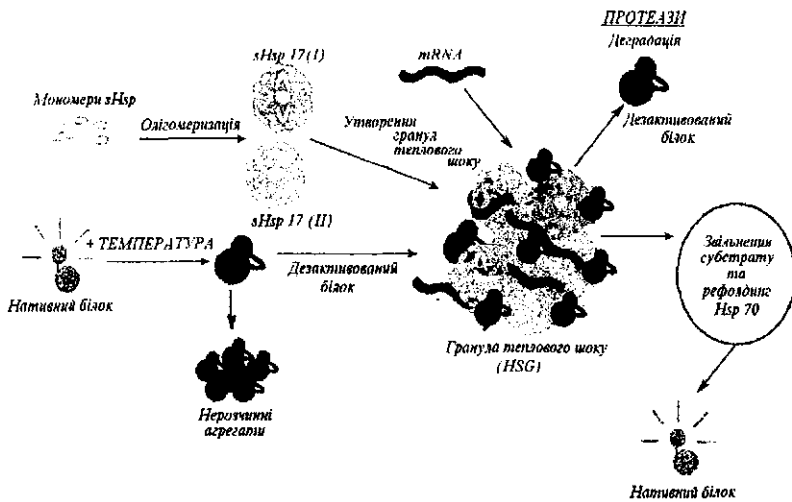


Рис. 3. Загальна схема дії sHsp на прикладі захисту та реактивації люциферази *Arabidopsis*, утворення гранул теплового шоку

ності протягом завершальних стадій ембріогенезу, з якими збігається процес висушування насіння [35]. Ця активація, вірогідно, опосередкована зв'язуванням з HSF, що підтверджується її редукцією упродовж процесів розвитку за умов виникнення мутацій HSE, які порушують механізм приєднання HSF [56, 57]. Проте ранні стадії ембріогенезу нечутливі до подібних мутацій.

Припускається, що інші специфічні для насіння трансактиваторні білки відповідають за промотування на цих стадіях. NaHsp17.6-G1 — єдиний серед sHsp генів, який не відповідає на температурний стрес і регулюється лише етапами розвитку [57]. Промотор NaHsp17.6-G1 містить неповний HSE, що бере участь в активації розвитку NaHsp17.6-G1 [58], проте HSE самостійно не здатний регулювати повну індукцію промотору NaHsp17.6-G1. Цис-активні елементи, локалізовані незалежно від HSE, діють на промотор позитивно або негативно. HSF та інші трансактиваторні фактори можуть поєднувати свою дію у регуляції NaHsp17.6-G1 упродовж висихання насіння через зв'язування HSE та згаданих цис-елементів [58]. Як один з трансактиваторів ідентифіковано фактор транскрипції *ABI3*, що регулює певні гени, особливо активні протягом розвитку насіння [59, 60]. Мутація *abi3* впливає на експресію та накопичення AtHsp17.4-CI, AtHsp17.6C-CI [45, 48] і AtHsp17.7-CII у насінні *A. thaliana*. Велике значення у розв'язанні питання регуляції експресії генів sHsp мали дослідження активації промотору NaHsp17.7-G4 у зародках соняшнику за подвійного впливу *ABI3* резущки і *LpHSFA1* томату. Аналіз експресії показав, що *ABI3* і HSF синергічно активують промотор NaHsp17.7-G4 у зародках [61]. *ABI3*-залежна акти-

вація потребує цілісності проксимальної і дистальної частин HSE та наявності домену активації HSF. С- і N-кінцеві домени HSF, а також *ABI3* є досить важливими для синергічної активації. *ABI3* відіграє визначну роль, проте лише у взаємодії з HSF через посилення зв'язування HSF з HSE. *ABI3* і HSF здатні взаємодіяти один з одним, однак *ABI3* може діяти і як транскрипційний коактиватор неспецифічного зв'язування ДНК [61].

Функції рослинних sHsp. Функції низькомолекулярних білків теплового шоку як на різних стадіях онтогенезу рослин, так і під час відповіді на різні типи стресів на сьогодні з'ясовані неповністю. Кореляція експресії Hsp і клітинної резистентності до високих температур дозволила створити гіпотезу щодо протекторного значення білків теплового шоку для клітини в умовах високих температур. Проте механізм, за яким Hsp діє як протектор, чітко не визначений. Деякі гіпотези пропонують загальний механізм відповіді на температурний стрес [62]. Наявність РНК у рослинних гранулах теплового шоку дозволила передбачити роль sHsp у протекції та збереженні мРНК за стресових умов [29] (рис. 3).

Молекулярні шаперони є білками, що зв'язують частково зібрані або денатуровані білки, запобігаючи, таким чином, їхній незворотній агрегації, або допомагають коректному фолдингу [63]. Шаперонову функцію рослинних sHsp *in vitro* було проілюстровано захистом та реактивацією люциферази у клітинах *Arabidopsis* [4] (рис. 3.) Процеси ренатурації потребують наявності Hsp70 і АТФ [5, 7]. Висока стабільність sHsp під час стресу визначає їхню значущість для періоду відновлення після дії стресу.

Залишається малозрозумілим механізм шаперонової активності sHSP. Припускається, що високонсервативний α -кристаліновий домен може бути важливим для шаперонової активності, але ці припущення не підтверджені, хоча дослідження sHsp рису, які експресуються в *Escherichia coli* та в С-кінцевій ділянці яких відсутні дві третини α -кристалінового домену, засвідчили збереження здатності до захисту від теплового шоку [27]. Більш того, було показано, що α -кристаліновий домен самостійно не має шаперонової активності *in vitro*. Мутації всередині багатого на фенілаланін α В-кристаліну, локалізованого в α -кристаліновому домені, порушують шаперонову активність *in vitro* без видозміни олігомерного комплексу [28]. Ці спостереження передбачають, що N-термінальні залишки, розташовані протилежно до α -кристалінового домену, також необхідні для шаперонової активності.

Нещодавно виявлено, що субстрат прикріплюється саме до гідрофобних сайтів sHsp. Оскільки sHsp піддаються залежним від температури структурним змінам, що підвищують поверхневу гідрофобність [5] без самоагрегації, гідрофобні сайти мають бути локалізовані всередині порожнини, що їй запобігає асоціації [5]. Подібний механізм має попереджувати непродуктивні взаємодії між нативними білками за нормальних температур.

На основі кристалічної структури sHsp *Methanococcus jannaschii* запропоновано можливі механізми, за якими низькомолекулярні білки теплового шоку мають захищати білки від денатурації [27]. Відповідно до цієї моделі, певні білки або РНК, важливі для виживання клітини під час стресу, можуть бути стабілізовані всередині чи на зовнішній поверхні сфери, утвореної sHsp, протягом їхнього збирання *in vivo*. Отвори є досить великими для упорядкування невеликих молекул, таких як ензимні субстрати та рівні лінійні пептидні ланцюги, для дифузії всередину і на поверхню сфери.

Експресія sHsp в онтогенезі. Експресію генів sHsp, яка відповідає певним стадіям ембріогенезу і не залежить від зовнішніх умов, вперше визначено у тварин і пізніше — у рослин [2]. Експресію представників обох цитозольних класів sHsp продемонстровано на рівні мРНК і білків в ембріонах гороху, пшениці, соняшнику, люцерни, резушки, тютюну, кукурудзи і томатів [2]. Також визначено експресію sHsp упродовж утворення пилку та ембріогенезу мікроспор [65]. Крім того, sHsp знайдено

у запасальних органах, таких як цибулини *Allium*, *Amaryllus*, *Crocus* і *Hyacinthus*, вусики *Aristolochia* та гілки *Acer* і *Sambucus* у стані спокою.

sHsp класів I та II у зародках гороху з'являються під час синтезу запасальних білків на початку розвитку і рівень їхньої експресії підвищується до надлишкового, якщо насінина зневоднюється [1]. У насінні соняшнику також виявлено подібне накопичення sHsp класу II, але sHSP класу I накопичуються лише на пізніх стадіях розвитку насіння [35]. Представники класу I sHsp резушки акумулюються упродовж стадії дозрівання і їхня кількість зменшується під час проростання [45]. На піку розвитку насіння гороху sHsp класу I вперше детектуються у період опадання перикарпію, який збігається з періодом висихання. мРНК і безпосередньо sHsp присутні у сухому насінні соняшнику та гороху протягом проростання на 2—3-й день після появи коренів та на 2—3-й день у насінні соняшнику. Надалі sHsp швидко деградує. Модель експресії і деградації sHsp може бути специфічною і подібною у різних видів рослин. Вірогідно, що sHsp класу I беруть участь у розвитку толерантності насіння до висихання чи підтримання стану спокою під час розвитку.

На противагу іншим класам sHsp і особливо класу I, існує відносно невелика кількість інформації стосовно накопичення і функціонування sHSP класу II і це свідчить про те, що специфіка функцій упродовж розвитку рослини все ще невідома і потребує подальших досліджень.

O. S. Talalaev

Plant small heat shock proteins

Summary

Small heat shock proteins (sHsp) are produced ubiquitously in prokaryotic and eukaryotic cells upon heat. The special importance of sHsp in plants is suggested by their unusual abundance and diversity. Six classes of sHsp have been identified in plants. In addition to heat stress, plant sHsp are also produced under other stress conditions and at certain developmental stages. The function of sHsp as molecular chaperones is supported by in vitro and in vivo assays. This review summarizes recent knowledge about plant sHsp gene expression, protein structure and functions.

Key words: heat shock proteins, chaperones.

A. C. Talalaev

Низькомолекулярные белки теплового шока растений

Резюме

Низькомолекулярные белки теплового шока (sHsp) продуцируются как в эукариотной, так и прокариотной клетке в ответ

на влияние высокой температуры. Особая роль sHsp для растений подтверждается их необычайным разнообразием. Идентифицированы шесть классов растительных sHsp. Они продуцируются и при действии других стрессовых факторов, а некоторые еще и на определенных стадиях развития. sHsp имеют особое значение для формирования устойчивости к стрессам. Шапероновая функция sHsp подтверждена *in vivo* и *in vitro*. Представленный обзор суммирует общие знания об экспрессии генов, молекулярной структуре и функциях sHsp растений.

Ключевые слова: белки теплового шока, шапероны.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants // *J. Exp. Bot.*—1996.—47.—P. 325—338.
2. Scharf K. D., Siddique M., Vierling E. The expanding family of *Arabidopsis thaliana* small heat stress proteins (sHsps) and a new family of proteins containing α -crystallin domains (Acid proteins) // *Cell Stress Chap.*—2001.—6.—P. 225—237.
3. Forreiter C., Kirschner M., Nover L. Use of a transgenic *Arabidopsis* cell suspension culture expressing high levels of firefly luciferase as reporter for analysis of chaperone activity *in vivo* // *Plant Cell.*—1997.—9.—P. 2171—2181.
4. Lee G. J., Roseman A. M., Saibil H. R., Vierling E. A small heat shock protein stably binds heat-denatured model substrates and can maintain a substrate in a folding competent state // *EMBO J.*—1997.—16.—P. 659—671.
5. Heckathorn S. A., Downs C. A., Sharkey T. D., Coleman J. S. The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress // *Plant Physiol.*—1998.—116.—P. 439—444.
6. Low D., Brandle K., Nover L., Forreiter C. Cytosolic heat-stress proteins Hsp17.7 class I and Hsp17.3 class II of tomato act as molecular chaperones *in vivo* // *Planta.*—2000.—211.—P. 575—582.
7. DeRocher A. E., Helm K. W., Lauzon L. M., Vierling E. Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat shock proteins during heat stress and recovery // *Plant Physiol.*—1991.—96.—P. 1038—1047.
8. Hsieh M.-H., Chen J.-T., Jinn T.-L., Chen Y.-M., Lin C.-Y. Class of soybean low-molecular-weight heat shock proteins immunological study and quantitation // *Plant Physiol.*—1992.—99.—P. 1279—1284.
9. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*—1991.—42.—P. 579—620.
10. Helm K. W., LaFayette P. R., Nagao R. T., Key J. L., Vierling E. Localization of small heat shock proteins to the higher plant endomembrane system // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 238—247.
11. Helm K. W., Schmeits J., Vierling E. An endomembrane-localized small heat-shock protein from *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.*—1995.—107.—P. 287—288.
12. Lenne C., Douce R. A low molecular mass heat-shock protein is localized to higher plant mitochondria // *Plant Physiol.*—1994.—105.—P. 1255—1261.
13. Lenne C., Block M. A., Garin J., Douce R. Sequence and expression of the mRNA encoding HSP22, the mitochondrial small heat-shock protein in pea leaves // *Biochem. J.*—1995.—311.—P. 805—813.
14. LaFayette P. R., Nagao R. T., O'Grady K., Vierling E., Key J. L. Molecular characterization of cDNAs encoding low-molecular-weight heat shock proteins of soybean // *Plant Mol. Biol.*—1996.—30.—P. 159—169.
15. Waters E. R. The molecular evolution of the small heat-shock proteins in plants // *Genetics.*—1995.—141.—P. 785—795.
16. Boston R. S., Viitanen P. V., Vierling E. Molecular chaperones and protein folding in plants // *Plant Mol. Biol.*—1996.—32.—P. 191—222.
17. Gustavsson N., Harndahl U., Emanuelsson A., Roepstorff P., Sundby C. Methionine sulfoxidation of the chloroplast small heat shock protein and conformational changes in the oligomer // *Protein Sci.*—1999.—8.—P. 2506—2512.
18. Lund A. A., Rhoads D. M., Lund A. L., Cerny R. L., Elthon T. E. *In vivo* modifications of the maize mitochondrial small heat stress protein, HSP22 // *J. Biol. Chem.*—2001.—276.—P. 29924—29929.
19. Chen Q., Osteryoung K., Vierling E. A 21-kDa chloroplast heat shock protein assembles into high molecular weight complexes *in vivo* and in organelle // *J. Biol. Chem.*—1994.—269.—P. 13216—13223.
20. Helm K. W., Lee G. J., Vierling E. Expression and native structure of cytosolic class II small heat shock proteins // *Plant Physiol.*—1997.—114.—P. 1477—1485.
21. Lee G. J., Vierling E. Expression, purification and molecular chaperone activity of olant recombinant small heat shock proteins // *Meth. Enzymol.*—1998.—29.—P. 350—365.
22. Kim R., Kim K. K., Yokota H., Kim S.-H. Crystal structure of a small heat-shock protein // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 9129—9133.
23. Kirschner M., Winkelhaus S., Thierfelder J., Nover L. Transient expression and heat stress induced co-aggregation of endogenous and heterologous small heat stress proteins in tobacco protoplasts // *Plant J.*—2000.—24.—P. 397—411.
24. Van Montfort R. L., Basha E., Friedrich K. L., Slingsby C., Vierling E. Crystal structure and assembly of an eukaryotic small heat shock protein // *Nat. Struct. Biol.*—2001.—8.—P. 1025—1030.
25. Smykal P., Masin J., Hrdy I., Konopasek I., Zarsky V. Chaperone activity of plant low molecular weight heat shock protein is adversely influenced by ATP // *Plant J.*—2000.—23.—P. 703—713.
26. Yei C.-H., Chang P.-F. L., Yeh K.-W., Lin W.-C., Chen Y.-M., Lin C.-Y. Expression of the gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein, Oshsp16.9, in *Escherichia coli* enhances thermotolerance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1997.—94.—P. 10967—10972.
27. Plater M. L., Goode D., Crabbe M. J. Effects of site-directed mutations on the chaperone-like activity of alphaB-crystallin // *J. Biol. Chem.*—1996.—271.—P. 28558—28566.
28. Nover L., Scharf K.-D., Neumann D. Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and are associated with a specific set of mRNAs // *Mol. Cell Biol.*—1989.—9.—P. 1298—1308.
29. Nover L., Scharf K.-D., Neumann D. Formation of cytoplasmic heat shock granules in tomato cell cultures and leaves // *Mol. Cell Biol.*—1983.—3.—P. 1648—1655.
30. Scharf K.-D., Heider H., Hohfeld I., Lyck R., Schmidt E., Nover L. The tomato Hsf system: HsfA2 needs interaction with HsfA1 for efficient nuclear import and may be localized in cytoplasmic heat stress granules // *Mol. Cell Biol.*—1998.—18.—P. 2240—2251.
31. Howarth C. J. Molecular responses of plants to an increased incidence of heat shock // *Plant Cell Environ.*—1991.—14.—P. 831—841.
32. Chen Q., Lauzon L. M., DeRocher A. E., Vierling E.

- Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein // *J. Cell Biol.*—1990.—110.—P. 1873—1883.
33. *Almoguera C., Coca M. A., Jordano J.* Tissue-specific expression of sunflower heat shock proteins in response to water stress // *Plant J.*—1993.—4.—P. 947—958.
 34. *Coca M. A., Almoguera C., Thomas T. L., Jordano J.* Differential regulation of small heat-shock genes in plants: analysis of a water-stress-inducible and developmentally activated sunflower promoter // *Plant Mol. Biol.*—1996.—31.—P. 863—876.
 35. *Almoguera C., Jordano J.* Developmental and environmental concurrent expression of sunflower dry-seed-stored low-molecular heat-shock protein and *Lea* mRNAs // *Plant Mol. Biol.*—1992.—19.—P. 781—792.
 36. *Alamillo J., Almoguera C., Bartels D., Jordano J.* Constitutive expression of small heat shock proteins in vegetative tissues of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* // *Plant Mol. Biol.*—1995.—29.—P. 1093—1099.
 37. *Sun W., Bernard C., Van de Cotte B., Van Montagu M., Verbruggen N.* At-HSP17.6A, encoding a small heat-shock protein in *Arabidopsis*, can enhance osmotolerance upon over-expression // *Plant J.*—2001.—27.—P. 407—415.
 38. *Huguet M. G., Verdaguer D., Puigderrajols P., Llompert B., Nadal A., Molinas M.* Stress proteins coexpressed in suberized and lignified cells and in apical meristems // *Plant Sci.*—1998.—139.—P. 49—57.
 39. *Banzet N., Richaud C., Deveaux Y., Kazmaizer M., Gagnon J., Triantaphylides C.* Accumulation of small heat shock proteins, including mitochondrial HSP22, induced by oxidative stress and adaptive response in tomato cells // *Plant J.*—1998.—13.—P. 519—527.
 40. *Lee G. J., Vierling E.* A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein // *Plant Physiol.*—2000.—1.—P. 189—198.
 41. *Sabehat A., Lurie S., Weiss D.* Expression of small heat-shock proteins at low temperatures: a possible role in protecting against chilling injuries // *Plant Physiol.*—1998.—117.—P. 651—658.
 42. *Gyorgyey J., Gartner A., Nemeth K., Magyar Z., Hirt H., Heberle-Bors E., Dudits D.* Alfalfa heat shock genes are differentially expressed during somatic embryogenesis // *Plant Mol. Biol.*—1991.—16.—P. 999—1007.
 43. *Eckey-Kaltenbach H., Kiefer E., Grosskopf E., Ernst D., Sandermann H., Jr.* Differential transcript induction of parsley pathogenesis-related proteins and of a small heat shock protein by ozone and heat shock // *Plant Mol. Biol.*—1997.—33.—P. 343—350.
 44. *Wehmeyer N., Hernandez L. D., Finkelstein R. R., Vierling E.* Synthesis of small heat-shock proteins is part of the developmental program of late seed maturation // *Plant Physiol.*—1996.—112.—P. 747—757.
 45. *Coca M. A., Almoguera C., Jordano J.* Expression of sunflower low-molecular-weight heat-shock proteins during embryogenesis and persistence after germination: localization and possible functional implications // *Plant Mol. Biol.*—1994.—25.—P. 479—492.
 46. *DeRocher A. E., Vierling E.* Developmental control of small heat shock protein expression during pea seed maturation // *Plant J.*—1994.—5.—P. 93—102.
 47. *Wehmeyer N., Vierling E.* The expression of sHsps in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance // *Plant Physiol.*—2000.—122.—P. 189—198.
 48. *Wu C.* Heat shock transcription factors: structure and regulation // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*—1995.—11.—P. 441—469.
 49. *Schoffl F., Prandl R., Reindl A.* Regulation of the heat-shock response // *Plant Physiol.*—1998.—117.—P. 1135—1141.
 50. *Pelham H. R. B.* A regulatory upstream promoter element in the *Drosophila* hsp70 heat-shock gene // *Cell.*—1982.—30.—P. 517—528.
 51. *Amin J., Ananthan J., Voellmy R.* Key features of heat shock regulatory elements // *Mol. Cell. Biol.*—1988.—8.—P. 3761—3769.
 52. *Xiao H., Lis J. T.* Germline transformation used to define key features of heat-shock response elements // *Science.*—1988.—239.—P. 1139—1142.
 53. *Barros M. D., Czarnecka E., Gurley W. B.* Mutational analysis of a plant heat shock element // *Plant Mol. Biol.*—1992.—19.—P. 665—675.
 54. *Prandl R., Kloske E., Schoffl F.* Developmental regulation and tissue-specific differences of heat shock gene expression in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants // *Plant Mol. Biol.*—1995.—28.—P. 73—82.
 55. *Almoguera C., Prieto-Dapena P., Jordano J.* Dual regulation of a heat shock promoter // *Plant J.*—1998.—13.—P. 437—446.
 56. *Carranco R., Almoguera C., Jordano J.* A plant small heat shock protein gene expressed during zygotic embryogenesis but noninducible by heat stress // *J. Biol. Chem.*—1997.—272.—P. 27470—27475.
 57. *Carranco R., Almoguera C., Jordano J.* An imperfect heat shock element and different upstream sequences are required for the seed-specific expression of a small heat shock protein gene // *Plant Physiol.*—1999.—121.—P. 723—730.
 58. *Giraudat J., Hauge B. M., Valon C., Smalle J., Parcy F., Goodman H. M.* Isolation of the *Arabidopsis* *ABI3* gene by positional cloning // *Plant Cell.*—1992.—4.—P. 1251—1261.
 59. *Parcy F., Valon C., Raynal M., Gaubier-Comella P., Delseny M., Giraudat J.* Regulation of gene expression programs during *Arabidopsis* seed development: roles of the *ABI3* locus and of endogenous abscisic acid // *Plant Cell.*—1994.—6.—P. 1567—1582.
 60. *Rojas A., Almoguera C., Jordano J.* Transcriptional activation of a heat shock gene promoter in sunflower embryos: synergism between *ABI3* and heat shock factors // *Plant J.*—1999.—20.—P. 601—610.
 61. *Arrigo A. P.* Small stress proteins: chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death // *J. Biol. Chem.*—1998.—379.—P. 19—26.
 62. *Hendrick J. P., Hartl F.-U.* The role of molecular chaperones in protein folding // *FASEB J.*—1995.—9.—P. 1559—1569.
 63. *Downs C. A., Heckathorn S. A., Bryan J. K., Coleman J. S.* The methionine-rich low-molecular-weight chloroplast heat-shock protein: evolutionary conservation and accumulation in relation to thermotolerance // *Amer. J. Bot.*—1998.—85.—P. 175—183.
 64. *Soto A., Allona I., Collada C., Guevara M.-A., Casado R., Rodriguez-Cerezo E., Aragoncillo C., Gomez L.* Heterologous expression of a plant small heat-shock protein enhances *Escherichia coli* viability under heat and cold stress // *Plant Physiol.*—1999.—120.—P. 521—528.
 65. *Van Berkel J., Salamini F., Gebhardt C.* Transcripts accumulating during cold storage of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers are sequence related to stress-responsive genes // *Plant Physiol.*—1994.—104.—P. 445—452.

УДК 577:122:58.036.2
Надійшла до редакції 27.01.05