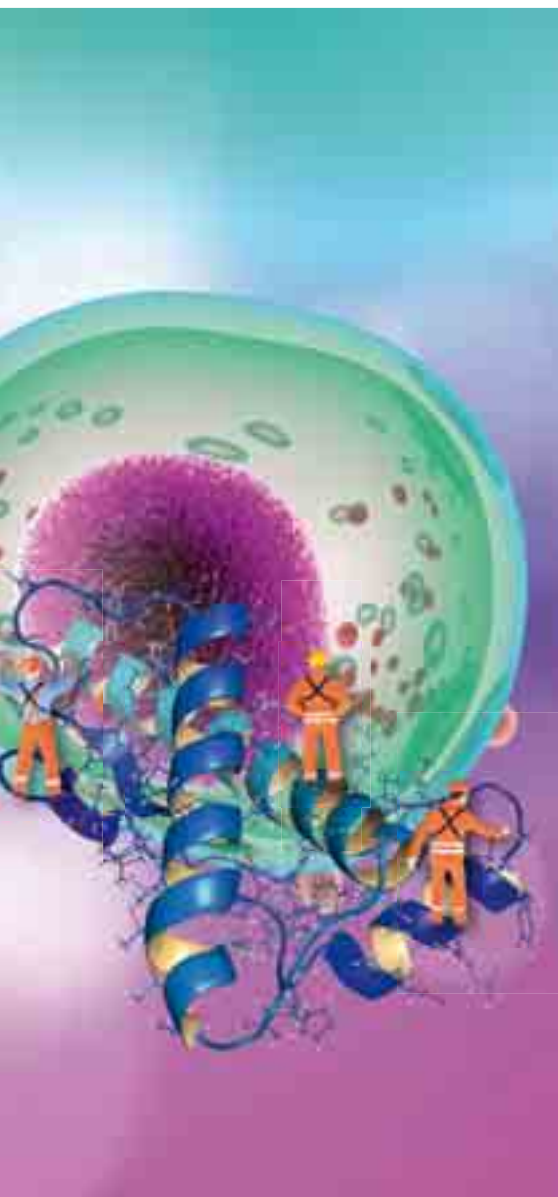


Чому шаперони цікаві фармакологам?

Що таке білок? Ланцюжок, утворений всього з 20 амінокислот. Але завдяки цим ланцюжкам і рухається вперед машина життя. Вони каталізують реакції, транспортують, захищають, регулюють, отримують і передають сигнали, запасають, формують клітини та органоїди. Таке різноманіття функцій можливе завдяки тому, що кожен білок має складну просторову структуру (конформацію), яка визначає його унікальні властивості



Амінокислотна послідовність більшості відомих білків забезпечує виключну стабільність лише однієї конформації, яку ми й називаємо нативною. У формуванні нативної просторової структури білка між різними групами амінокислотних залишків виникають численні зв'язки — водневі, гідрофобні, іонні та навіть ковалентні (дисульфідні містки між залишками цистеїну). Поліпептидний ланцюг утворює спочатку прості регулярні структури (спіралі та складки), а потім — більш складні структурні мотиви.

Якщо в процесі згортання (фолдингу) щось піде не так, то з високою ймовірністю білок не працюватиме як слід. Дефектний білок або буде зруйнований як сміття своїми ж «родичами» — білками-ферментами, яким пощастило сформувати правильну просторову структуру та сумлінно працювати в клітинному «домогосподарстві», або почне утворювати з іншими білками нерозчинні агрегати, що накопичуватимуться в цитоплазмі, поки не призведуть до клітинної смерті.

КОЛИ БІЛКИ ПОТРЕБУЮТЬ ДОПОМОГИ

Невеликі білки зазвичай успішно згортаються самостійно (спонтанно), тоді як великі є надто складними та потребують допомоги. Її надають інші білки — так звані молекулярні шаперони, які є в кожному живому організмі. Вважають, що шаперони забезпечують фолдинг приблизно половини внутрішньоклітинних білків.

Шаперони необхідні для ефективного формування третинної структури поліпептидних ланцюгів інших білків, але вони не утворюють з білками ковалентних зв'язків та не входять до складу кінцевих білкових структур. Тобто шаперон зробив справу — шаперон може йти допомагати іншим білкам.

Шаперони каталізують згортання не тільки новостворених поліпептидів. Вони також беруть участь у збірці поліпротейнів та мультибілкових комплексів, адже деякі білки містять кілька поліпептидних ланцюгів (однакових чи різних), кожен з яких синтезується окремо, а потім утворюють єдину надмолекулярну структуру.

Шаперони працюють як на «виробництві», так і в «ремонті». Якщо на поверхні білкової молекули в гідрофільному середовищі опиняються гідрофобні групи, то такі білки швидко злипаються між собою, утворюючи нерозчинні та нефункціональні агрегати. Шаперони зв'язуються з гідрофобними ділянками та допомагають білкам набути правильної стабільної конформації. До речі, термін «шаперони» вперше застосував у 1978 р. британський вчений Рон Ласкей, який спостерігав, як білок нуклеоплазмін в клітинному ядрі попереджає агрегацію білка-гістону з ДНК при утворенні нуклеосоми.

Боротьба з наслідками усіляких стресів у клітині — також завдання шаперонів. Будь-який білок може протягом життя під впливом різних чинників частково втрачати нативну структуру — денатурувати. Такі частково денатуровані білки можуть стати мішенню протеаз чи агрегувати або ж їх знайдуть шаперони та «полагодять». Синтез в клітині деяких шаперонів активується стресом. Наприклад, шаперонами є білки теплового шоку (heat shock protein — HSP).

Шаперони, крім своєї основної функції згортання білків, також роблять багато інших важливих справ, пов'язаних зі зміною білкової конформації. Так, вони забезпечують транспорт багатьох білків з одного компартмента клітини в інший, наприклад, перенесення субодиниць ферменту RuBisCO з цитоплазми в хлоропласт відбувається в

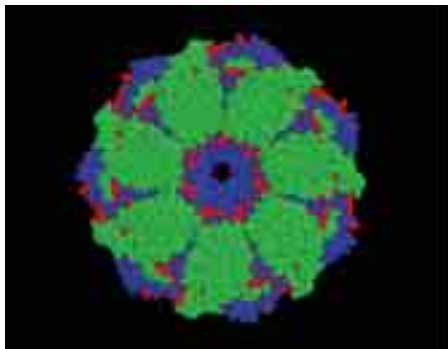
комплексі з шапероном HSP70. Крім того, шаперони беруть участь у передачі сигналів та регулюють функції різних молекул: наприклад, стероїдний рецептор, що знаходиться в цитоплазмі, за відсутності ліганду зв'язаний з HSP90, який не дозволяє йому вступати у взаємодію з оточенням; тільки після приєднання до рецептора його ліганду шаперон витісняється, а комплекс рецептор — ліганд починає діяти.

Класифікація шаперонів ґрунтується на їхній молекулярній масі. Так, шаперони з молекулярною масою близько 70 кДа (HSP70) при синтезі поліпептидного ланцюга на рибосомі захищають його реакційно-здатні групи, щоб він не почав згортатися передчасно. Такого «захисту» найбільше потребують гідрофобні радикали амінокислот.

Фолдинг багатьох високомолекулярних білків, які мають складну конформацію, здійснюється в ізолюваному від інших молекул просторі, оточеному кільцем з 14 субодниць шаперону HSP60. Вивільнення білка зі сформованою нативною конформацією супроводжується гідролізом АТФ. Такий шаперон-залежний фолдинг потребує великих енергетичних витрат.

КОНФОРМАЦІЙНІ НЕГАРАЗДИ

Звісно, шаперони не усувають усі помилки фолдингу, які виникають в тисячах клітинних білків. Порушення просторової структури тих чи інших білків лежить в основі багатьох захворювань, які називають «конформаційними хворобами» (в англійській літературі — протеїнопатіями). Їхній перелік постійно розширюється і наразі вважають, що приблизно 40% хвороб людини можуть бути пов'язані з помилками фолдингу.



Шаперони працюють як на «виробництві», так і в «ремонті». Якщо на поверхні білкової молекули в гідрофільному середовищі опиняються гідрофобні групи, то такі білки швидко злипаються між собою, утворюючи нерозчинні та нефункціональні агрегати. Шаперони зв'язуються з гідрофобними ділянками та допомагають білкам набутти правильної стабільної конформації

Чинники, що можуть зумовити порушення конформації білка:

- різні ліганди і, зокрема, інші білки, лікарські засоби, токсини тощо;
- конформаційні матриці, зокрема, амілоїди;
- точкові мутації в гені, що кодує білок, помилки під час транскрипції або трансляції генетичної інформації;
- відхилення параметрів внутрішнього середовища організму (рН, осмотичний та онкотичний тиск, зміна температури тощо).

Основними наслідками порушення конформаційної стабільності білка можуть бути як дефіцит даного білка та/або його функції, так і небажані ефекти, спричинені агрегатами білка у випадку їхнього формування. Прикладом першого варіанта може служити мутація в гені білка $\alpha 1$ -антитрипсину: дефіцит даного інгібітора протеаз може стати причиною емфіземи та хронічного обструктивного захворювання легень. Прикладами другого варіанта можуть бути накопичення амілоїду в ЦНС при хворобі Альцгеймера, α -синуклеїну — при хворобі Паркінсона, а також пріонні хвороби, коли конформаційна матриця проникає в організм ззовні. Найчастіше патогенез конформаційних хвороб пов'язаний одночасно з недостатністю функції та токсичною дією агрегатів зміненого білка.

Іноді винуватцями конформаційних хвороб виступають самі шаперони. Відомий приклад — катаракта, стан, пов'язаний з помутнінням кришталика. Основна маса кришталика утворена волокнами, наповненими кристаліном — сумішшю білків, які забезпечують прозорість та еластичність кришталика. До складу кристаліну входять структурні білки і шаперони, що підтримують правильну конформацію структурних білків. З віком функції шаперонів порушуються і структурні білки починають утворювати нерозчинні агрегати, що впливає на прозорість та еластичність кришталика.

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ШАПЕРОНИ

Для виправлення та/або стабілізації просторової структури білка та відповідно відновлення його функції можуть бути використані молекули з невеликою молекулярною масою — так звані хімічні або фармакологічні шаперони. Перші добре відомі біохімікам — їх традиційно застосовують у лабораторіях для перешкодження агрегації білків у зразках (гліцерин, трегалоза, триметиламін n -оксид, деякі вільні амінокислоти тощо). Для використання *in vivo* більшість з них не підходять, адже вони діють неспецифічно та чинять ефект при високих концентраціях, небажаних для клітин. Інша річ — фармакологічні

шаперони. Вони специфічно взаємодіють зі зміненим білком та впливають на його конформацію. Якщо змінений білок — фермент, то в якості фармакологічних шаперонів можуть виступати його ліганди, кофактори, конкурентні інгібітори. Зв'язування цих молекул зі зміненим білком примушує останній набутти правильної конформації, після чого шаперон має від'єднатися та не заважати білку виконувати його функції.

Великою групою хвороб, для лікування яких можуть бути корисними фармакологічні шаперони, є так звані лізосомні хвороби накопичення. Це рідкісні хвороби, пов'язані з мутаціями в генах різних лізосомних ферментів. Порушення структури та дефіцит функції останніх призводять до накопичення в клітинах їхніх субстратів. Один з прикладів — хвороба Фабрі, при якій через мутації в гені ферменту α -галактозидази А в клітинах нагромаджуються глікоspfінголіпіди, що загрожує багатьма ускладненнями та передчасною смертю. Описано більше 500 мутацій гена α -галактозидази А, значна частина яких призводить до порушення конфігурації α -галактозидази А. Для лікування саме таких випадків у 2004 р. був схвалений пероральний препарат мігаластат. Це потужний інгібітор α -галактозидази А, який зв'язується з ферментом та перемикає його фолдинг на коректну конформацію. Коли фермент набуває правильної структури, мігаластат від'єднується.

Також фармакологічні шаперони випробовують у терапії різних каналопатій — захворювань, пов'язаних з дефектами мембранних каналів та, відповідно, порушенням транспорту іонів через них. Каналопатії часто зумовлені генними мутаціями в білках, що утворюють мембранні канали. Найбільш відомим прикладом є муковісцидоз — хвороба, зумовлена дефектами білка CFTR, що задіяний в транспорті іонів хлору через мембрани епітеліальних клітин. Дефект CFTR призводить до порушення роботи екзокринних залоз та важких ускладнень, перш за все з боку дихальної та травної систем. Донедавна таких пацієнтів лікували лише симптоматично, але останнім часом були схвалені кілька засобів (івакафтор, лумакафтор), які діють як шаперони — стабілізують структуру дефектних трансмембранних каналів. Недоліком цих препаратів є те, що вони ефективні лише у частини пацієнтів — тих, що мають певну мутацію в гені CFTR.

Також зазначимо, що шаперони, як фармакологічні (амброкол, ізофагомін), так і ендогенні (HSP70) є перспективним підходом до лікування нейродегенеративних захворювань, пов'язаних із накопиченням у ЦНС тих чи інших білкових включень.

Тетяна Ткаченко, канд. біол. наук