

Čaperon Hsp90 - uloge u smatanju proteina i pokretanju noviteta u evoluciji

Verbanac, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:994660>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Ana Verbanac

**Čaperon Hsp90 – uloge u smatanju proteina i pokretanju
noviteta u evoluciji**

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Ana Verbanac

**Chaperone Hsp90 – Roles in Protein Folding and
Establishment of Novelty in Evolution**

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa molekularne biologije na Zavodu za biokemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom doc. dr. sc. Marka Močiboba

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Čaperon Hsp90 – uloge u smatanju proteina i pokretanju noviteta u evoluciji

Ana Verbanac

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Čaperon Hsp90 jedan je od ključnih regulatora proteostaze pod normalnim i stresnim uvjetima za eukariotsku stanicu. Proteini iz obitelji Hsp90 pronađeni su u bakterijama, citosolu, endoplazmatskom retikulumu, mitohondriju i kloroplastu. Svi homolozi imaju slične strukture i funkcije zato što je riječ o vrlo konzerviranoj obitelji proteina. Sa svojim supstratima stvara komplekse te omogućuje konformacijske rearanžmane i poprimanje aktivne strukture proteina supstrata. Uz njih, bitnu ulogu imaju kočaperoni koji interagiraju sa čaperonom i reguliraju ATPaznu aktivnost, konformacijski ciklus Hsp90 dimera i interakciju sa drugim čaperonima. Hsp90 može imati i ulogu puferiranja i potenciranja genetičke varijacije i poticanja noviteta u evoluciji. Razumijevanje dinamike Hsp90 i kočaperona omogućuje razumijevanje smatanja proteina, ali i razvijanje metoda za liječenje neurodegenerativnih bolesti uzrokovanih agregacijama proteina.

Ključne riječi: Hsp90, čaperon, kočaperon, evolucija

(27 stranica, 9 slika, 0 tablica, 47 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: doc. dr. sc. Marko Močibob

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Chaperone Hsp90 – Roles in Protein Folding and Establishment of Novelty in Evolution

Ana Verbanac

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Chaperone Hsp90 is one of key regulators of proteostasis under both physiological and stress conditions in eukaryotic cells. Members of Hsp90 protein family can be found in bacteria, cytosol, endoplasmatic reticulum, mitochondria and chloroplast. All homologs exhibit similar structures and functions because Hsp90 family is highly conserved. It forms complexes with its substrates and enables their conformational rearrangements and gaining of an active protein structure. An important role is played by co-chaperones that interact with the chaperone and regulate ATPase activity, the conformational cycle of the Hsp90 dimer and interaction with other chaperones. Hsp90 can also play the role of buffering and potentiating genetic variations and stimulating novelty in evolution. Understanding the dynamics of Hsp90 and co-chaperones enables the understanding of protein folding, but also the development of methods for the treatment of neurodegenerative diseases caused by protein aggregation.

Keywords: Hsp90, chaperone, co-chaperone, evolution

(27 pages, 9 figures, 0 tables, 47 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: doc. dr. sc. Marko Močibob

Sadržaj

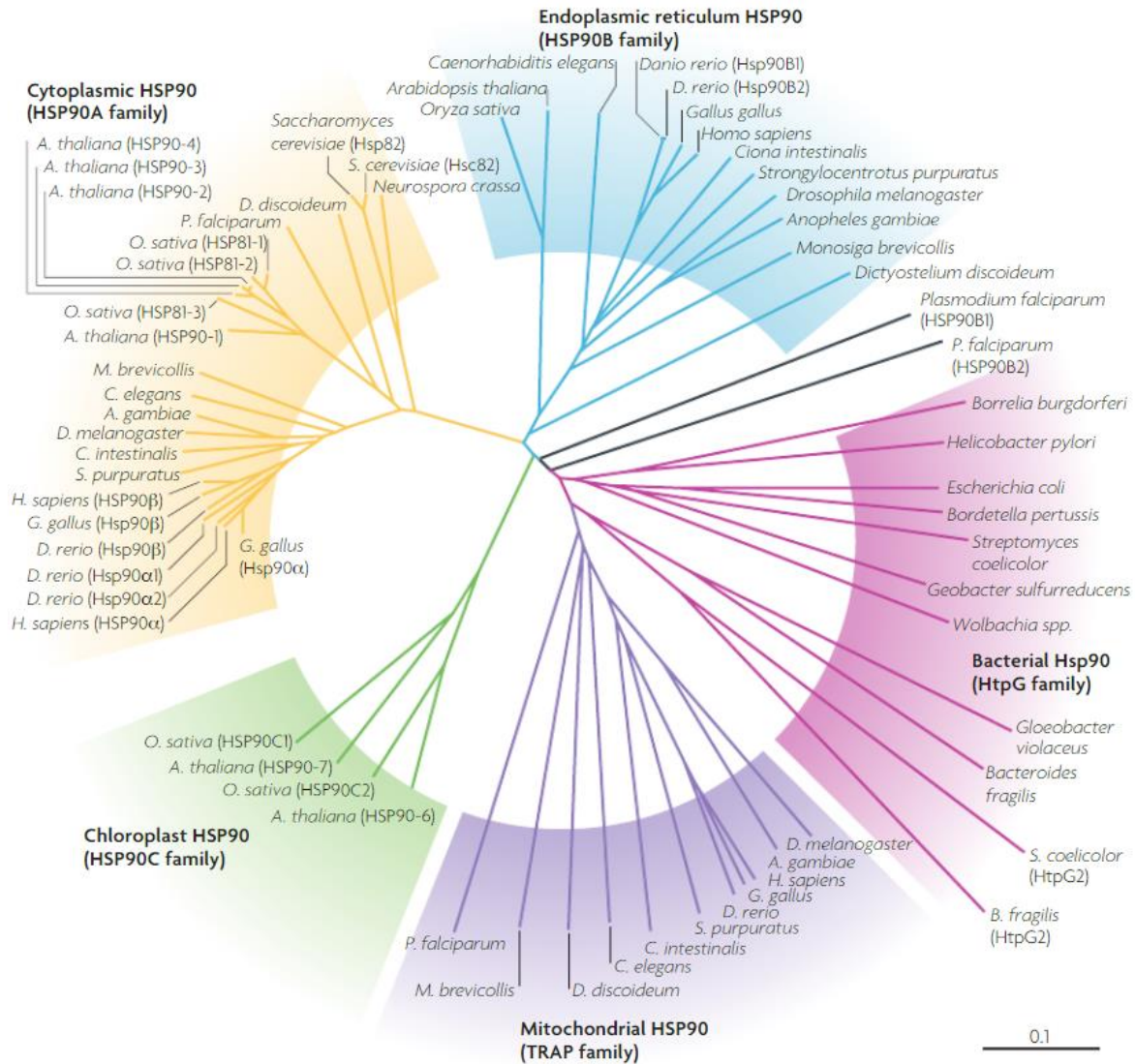
1. Uvod	1
1.1.Obitelj Hsp90	1
2. Struktura Hsp90	3
2.1.N-terminalna domena.....	3
2.2.Spojnicu N-terminalne domene i središnje domene.....	5
2.3.Središnja domena	5
2.4.C-terminalna domena	7
2.5.Hsp90 u čovjeku	9
3. Funkcije Hsp90	11
3.1.Kočaperoni	11
3.2.Konformacijski ciklus Hsp90	14
4. Hsp90 potiče novitete u evoluciji	17
5. Neurodegenerativne bolesti	19
6. Zaključak	21
7. Literatura	22
8. Životopis	27

1. Uvod

Da bi stanica funkcionirala u njoj se mora događati niz metaboličkih reakcija koje u većini slučajeva obavljaju proteini. Osim što protein treba imati ispravan aminokiselinski slijed, za potpunu funkcionalnost potrebno je i da se pravilno smota. Nakon translacije na ribosomima aminokiselinski lanac poprima sekundarne i tercijarne strukture te se tada neki hidrofobni dijelovi koji se u nativnoj strukturi proteina nalaze u unutrašnjosti mogu pronaći na površini. Takvi su trenutci riskantni za proteom stanice jer se hidrofobni dijelovi mogu krivo smotati ili tvoriti agregate. Tome pridonosi i velika koncentracija makromolekula u stanicama koja povećava vjerojatnost njihove interakcije. Stanica je zbog toga razvila čaperone (eng. *chaperones*) koji pomažu proteinima, svojim supstratima, da poprime pravilnu strukturu. Povećana ekspresija čaperona često je inducirana u stresnim uvjetima kao što su oksidativni stres, visoke koncentracije toksičnih tvari i toplotnog šoka (Garrido i sur., 2001). Proteini toplotnog šoka (Hsp) (eng. *Heat shock proteins*) su čaperoni koji se mogu podijeliti u četiri skupine. HSP60 ili čaperonini koji su u *Escherichii coli* poznati kao GroEL te interagiraju sa GroES proteinima, Hsp70 (u *E.coli* poznati kao DnaK), Hsp100 (u *E.coli* poznati kao ClpA i ClpB) i Hsp90 (u *E.coli* poznati kao HptG).

1.1. Obitelj Hsp90

Obitelj Hsp90 vrlo je konzervirana i filogenetskom stablu je podjeljena u pet skupina (Slika 1). Hsp90A, Hsp90B, Hsp90C, TRAP i HtpG. U eukariotima su pronađeni Hsp90A u citosolu, a u endoplazmatskom retikulumu Hsp90B, u čovjeku poznat pod nazivnom Grp94. Kloroplastni ekvivalent je Hsp90C, a mitohondrijski TRAP (mitohondrijski TNFR-asocirani protein). HtpG (eng. *high temperature protein G*) pronađen je u većini bakterija, ali za razliku od eukariotskih nije esencijalan u normalnim uvjetima. *Hsp90* geni mogu imati 1 – 21 egzona, a molekularna masa im može varirati od 66,7 do 98,1 kDa (Chen i sur., 2006). Hsp90 je homodimer koji na svojoj N-terminalnoj domeni ima ATPaznu aktivnost, središnji dio zadužen je za vezanje supstrata i kočaperona, a C-terminalna domena omogućuje stvaranje dimera. Koristeći vezanje i hidrolizu ATP-a Hsp90 uz pomoć kočaperona može smatati proteine i spriječiti nestrukturirane proteine od agregacije kao što su kinaze i transkripcijski faktori u koje spadaju steroidni hormonski receptori (SHR) (Theodoraki i Caplan, 2012).

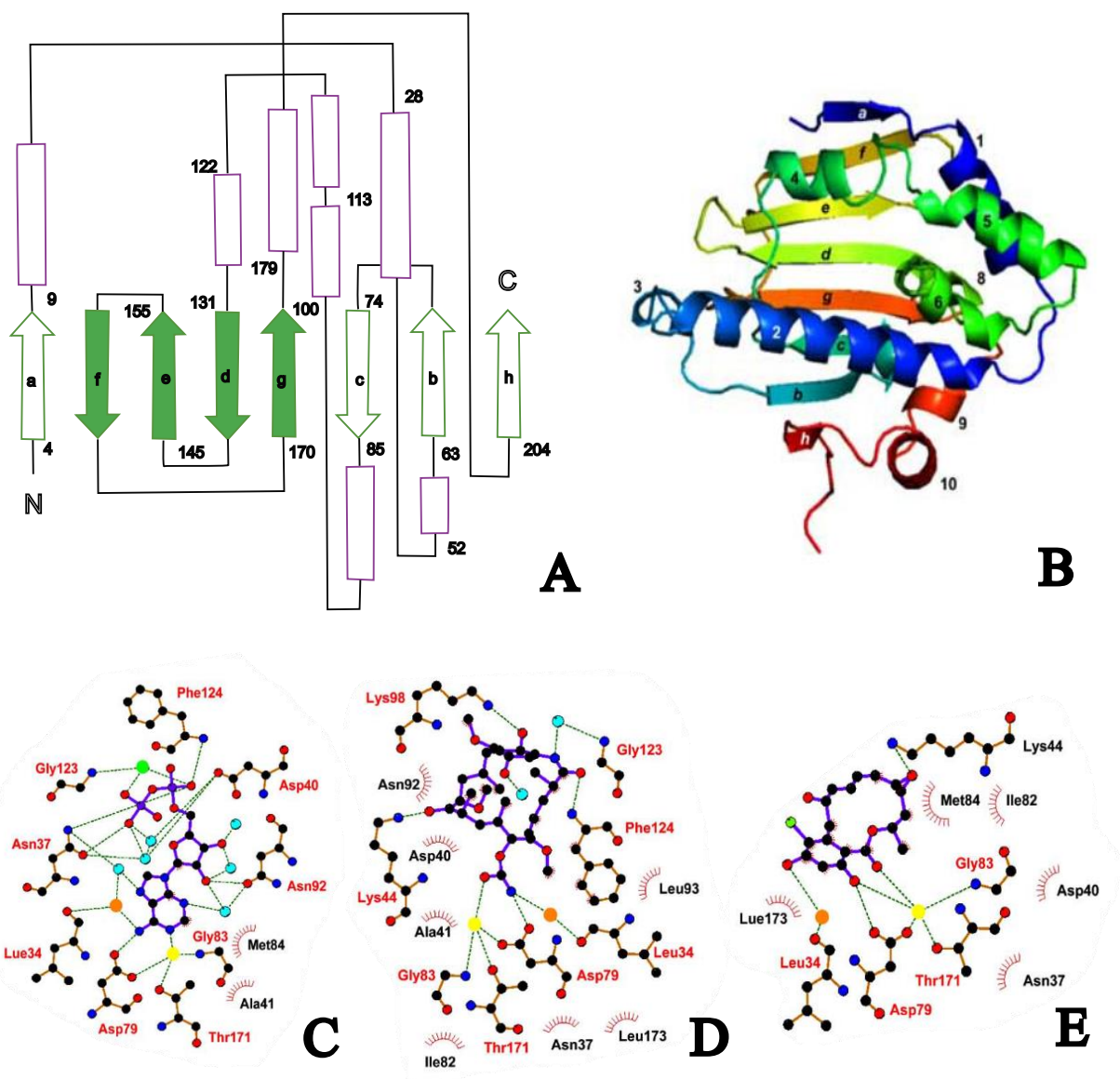


Slika 1. Filogenetsko stablo obitelji Hsp90. Preuzeto iz Taipale i sur., 2010.

2. Struktura Hsp90

2.1. N-terminalna domena (NTD)

Kristalnu strukturu N-terminalne domene Hsp90 prvi su puta opisali Prodromou i suradnici 1997. godine u modelnom organizmu *Saccharomyces cerevisiae*. N-terminalni kraj molekularne mase 25 kDa visoko je konzerviran u obitelji Hsp90, ali dijeli sličnosti sa topoizomerasom tipa II i DNA girazom (Prodromou & Pearl, 2005). Njegova sekundarna struktura sadrži 8 lanaca (a-h) koji tvore β -ploču na jednoj strani podjedinice, na drugoj stvara se ATP-vezno mjesto od osam α -zavojnica (Slika 2B). β -ploča je antiparalelna osim lanaca b i h, a stvara se i grčki motiv ključa (*eng. Greek Key Motif*) između lanaca d, e, f i g (Prodromou i sur., 1997). Grčki motiv ključa topologija je β lanaca kada se 4 antiparalelna lanca formiraju na način prikazan na Slici 2. (A) te to nalikuje dekorativnom uzorku iz antičke Grčke. Upravo te antiparalelne β -ploče su plohe kojima se monomeri mogu međusobno spojiti i tako tvoriti dimer koji je stabiliziran vodikom i van der Waalsovima, konzerviranim za obitelj čaperona Hsp90. Dimerizacijom se stvara cilindrični kanal između monomera širine 8 Å, a dužine 25 Å (Prodromou i sur., 1997). Na drugoj strani monomera veže se ATP svojim N6 dušikom na adeninu na karboksilatni bočni ogranak Asp 79 i molekulu vode koju pozicionira Leu 34 dok drugu molekulu vode u aktivnom mjestu pozicioniraju tri aminokiseline te se ona veže za N1 imino-dušik na adeninu (Prodromou & Pearl, 2005). Osim ATP-a u aktivno mjesto vežu se i antibiotici geldanamycin i radikol (Prodromou i sur., 1997; Roe i sur., 1999), koji su pokazali nukleotidnu mimikriju prema svome obliku i spomenutim interakcijama u aktivnom mjestu (Slika 2C-E).



Slika 2. N-terminalna domena. (A) Shematski prikaz NTD-e. Strelice prikazuju β -ploču, a pravokutnici α -zavojnice. Obojane strelice dio su grčkog motiva ključa. Shema napravljena prema radu Prodromou i sur., 1997 u programu *Inkspace*. (B) Tercijarna struktura NTD-e. (C) ATP u aktivnom mjestu NTD-e. (D) Geldanamycin u aktivnom mjestu NTD-e. (E) Radikicol u aktivnom mjestu NTD-e. Slike B-E preuzete iz Prodromou & Pearl, 2005.

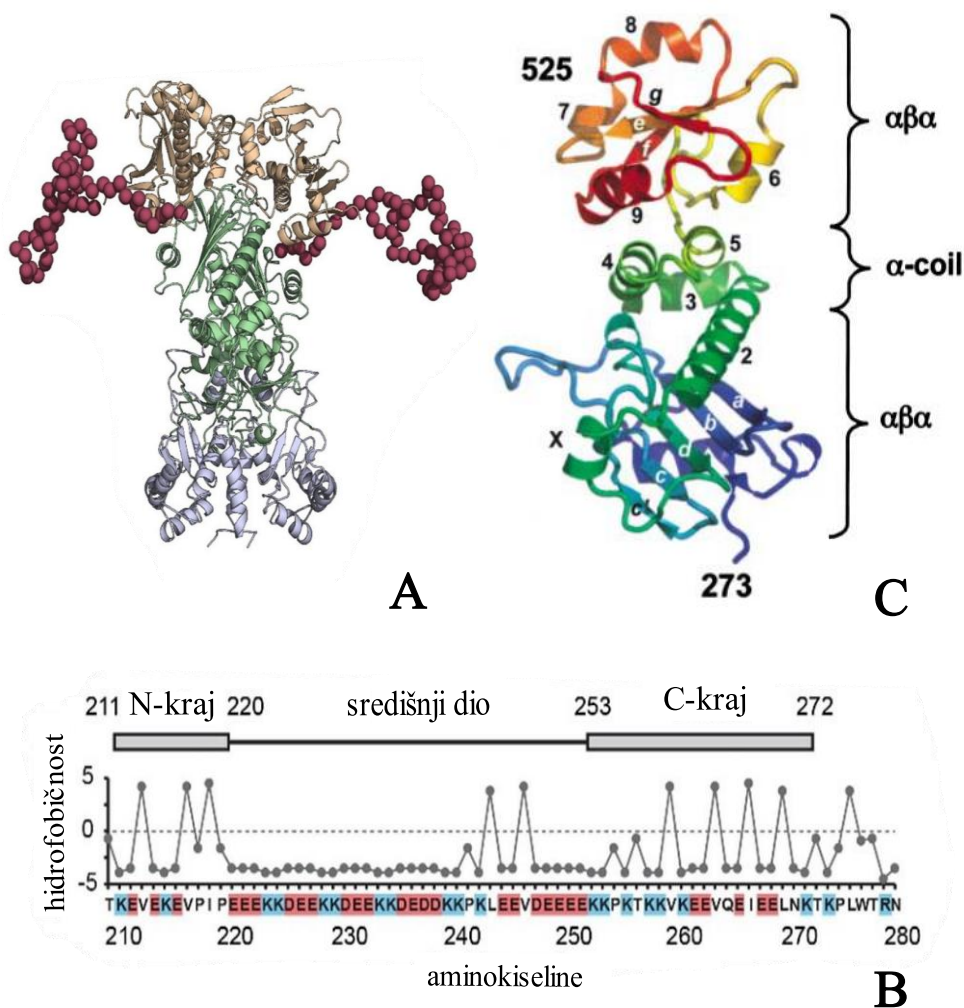
2.2. Spojnica N-terminalne domene i središnje domene

Između dvije domene nalazi se spojnica (Slika 3A) koja može utjecati na funkciju Hsp90 (Tsutsumi i sur., 2012). Spojnica Hsp90 iz *Saccharomyces cerevisiae* slijeda aminokiselina 211-272 djeli se na tri dijela (Slika 3B) – N-kraj, središnji dio i C-kraj. N-kraj spojnice (aminokiselinski slijed: 211-220) specifičan je po motivu $^{217}\text{VPIP}^{220}$, središnji dio od 221 do 241 aminokiseline nema prepoznatljive motive, ali su glutaminska kiselina, asparaginska kiselina i lizin najzastupljenije (38% Glu i Lys, 24% Asp). Najčešći je slijed (D/E)(D/E)(D/E)KK. Slijede aminokiseline C-kraja spojnice od kojih su najbitniji slijedovi 253-261 bogat lizinom i alterirajuća regija negativno nabijenih i hidrofobnih aminokiselina (López i sur., 2021). Promjene u ovim regijama utječu na vijabilnost i temperaturnu osjetljivost kvasca. U modificiranom obliku Hsp90 spojnica je zamijenjena sa glicin-serin slijedom (Gly-Ser-Ser-...ponavljanja) u više različitih oblika. Mutanti Hsp90 GSS7 (spojnica Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly) bili su vijabilni i imali ATPaznu aktivnost divljeg tipa dok se aktivnost yHsp90-GSS56, -GSS63, i -GSS95 smanjila za 20 – 40% (Tsutsumi i sur., 2012). Zanimljivo, u stanicama sa mutiranim Hsp90 ATPazna aktivnost se nije značajno smanjila. To upućuje na djelovanje kočaperona Aha1 (aktivator Hsp90 ATPaze protein 1) koji se simultano veže na NTD i središnju domenu, potiče konformacijsku promjenu i tako stimulira ATPaznu aktivnost (Tsutsumi i sur., 2012). Povećani broj deletiranih aminokiselina u spojnici dovodi prvotno do temperaturne osjetljivosti, a potom i letalnog fenotipa jer se u potpunosti gubi regulacija Hsp90 pomoću kočaperona (Hainzl i sur., 2009). N-kraj i C-kraj spojnice pokazuju dinamične interakcije, dok sama spojnica ne pokazuje interakciju sa središnjom domenom, ali sa NTD-om pomoću C-kraja stvaraju se dinamične interakcije na dijelu β -ploče sa *h* lancem. Dolazi do destabilizacije i odvajanja od *b* lanca i α -zavojnice 8. (López i sur., 2021).

2.3. Središnja domena

Struktura molekularne mase 33 kDa podjeljena je u 3 dijela (Slika 3). Prvi se dio (aminokiselinski slijed: 273-409) sklapa u troslojni α - β - α sendvič te sadržava 5 lanaca u β -ploči, α -zavojnicu u s tri okreta na konveksnoj strani i α -zavojnicu sa šest okreta na konkavnoj strani. Središnji segment formiran je od tri male α -zavojnice (aminokiselinski slijedovi: 411-420, 421-432 i 436-443), a zadnji se dio domene ponovno smata u troslojni α - β - α sendvič (aminokiselinski slijed: 435-525) (Meyer i sur., 2003). Kako bi se utvrdila funkcija središnje domene napravljen je model zatvorenog tipa Hsp90 bez C-terminalne domene temeljen na proteinima MutL i DNA

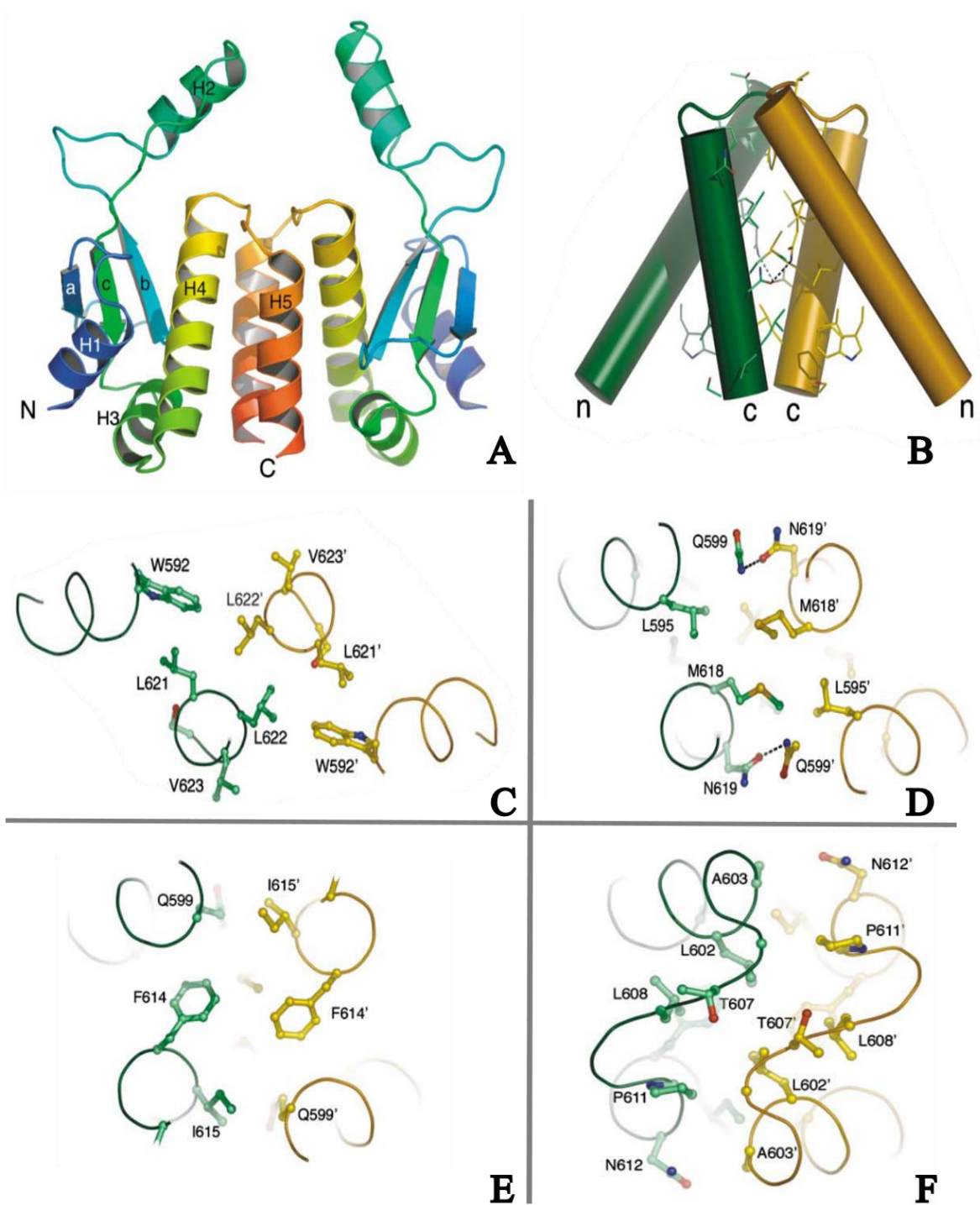
girazi B (GyrB). Prijašnja istraživanja pokazala su sličnosti N-terminalne domene iz Hsp90 i N-terminalne domene proteina GyrB (Ban & Yang, 1998). Model omogućava identifikaciju vanjskih i unutarnjih strana središnje domene u dimeru Hsp90. Bez središnje domene NTD ima neznatnu ATPaznu aktivnost, ali zbog interakcija sa središnjom domenom koja orijentira γ -fosfat i omogućuje vodi nukleofilni napad pa se aktivnost povećava. Toj katalizi pridonose Arg 380 i Gln 384 (Meyer i sur., 2003). Osim povećanja katalitičke aktivnosti, središnja domena pokazala je sposobnost razlučivanja supstrata i tako prilagođava Hsp90 na pravilnu aktivaciju supstrata (Hawle i sur., 2006).



Slika 3. Spojnica Hsp90 i središnja domena. (A) Trodimenzionalna struktura Hsp90. Crvene sfere označuju spojnica. Žuto prikazana NTD, zeleno središnja domena, a ljubičasto CTD. (B) Kyte-Doolittleova skala hidrofobičnosti za spojnica Hsp90. Preuzeto iz López i sur., 2021. (C) Središnja domena sa označenim sekundarnim strukturama. Preuzeto iz Meyer i sur., 2003.

2.4. C-terminalna domena (CTD)

C-terminalna domena Hsp90 bitna je za funkcioniranje Hsp90 jer je interakcija N-terminalnih domena i time njihova ATPazna aktivnost ovisna o dimerizaciji CTD-a (Slika 4A) bez kojih se ta aktivnost smanjuje, a vijabilnost opada (Louvion i sur., 1996; Scheibel i sur., 1998). Homolog Hsp90 u *E.coli* – HtpG na početku CTD-e posjeduje malu α -zavojnica (H1) na koju se nastavlja trolančana β -aniparalelna ploča. Između b i c lanca nalazi se još jedna mala α -zavojnica (H2), slijede ju α -zavojnice H3, H4 i H5 od kojih zadnje dvije tvore interakciju sa drugom CTD-om (Slika 4B). Snop od četiri zavojnice (eng. *four-helix bundle*) ima topologiju u kojoj su α -zavojnice u istom monomeru pod kutem od -130° , H5 je u antiparalelnoj poziciji sa H4' pod kutem od -178° (Harris i sur., 2004). Trp592, Leu621 i Leu622 stvaraju nepolarne interakcije sa svojim podudarnim aminokiselinama na drugome monomeru, hidrofobne interakcije Met618 sa dimerskim partnerom osigurane su s dvije vodikove veze između Asn619 i Gln599. Leu 602 i Pro611 na krajevima H4 i H5 osiguravaju interakcije Leu608. Jake interakcije stvaraju se između dimerskih partnera Phe614 i Phe614', a Leu 602 i Pro611 na krajevima zavojnica H4 i H5 osiguravaju položaj Leu608 koji omogućuje savijeno hidrofobno sučelje između CTD dimera (Slika 4C-E) (Harris i sur., 2004). CTD bitna je i za interakciju s kočaperonima – regulatorima Hsp90. Posjeduje Met-Glu-Glu-Val-Asp regiju (MEEVD) na koju se vežu kočaperoni sa svojim tetrakopeptidnim ponavljanjima (TPR). TPR-domene su konzervirane sekvence od 34 aminokiseline koje se mogu ponoviti 1 – 16 puta (Brinker i sur., 2002), a tvore motiv od dvije antiparalelne α -zavojnice koje stvaraju zavojitu strukturu s amfipatskim kanalom (Schmid i sur., 2012).



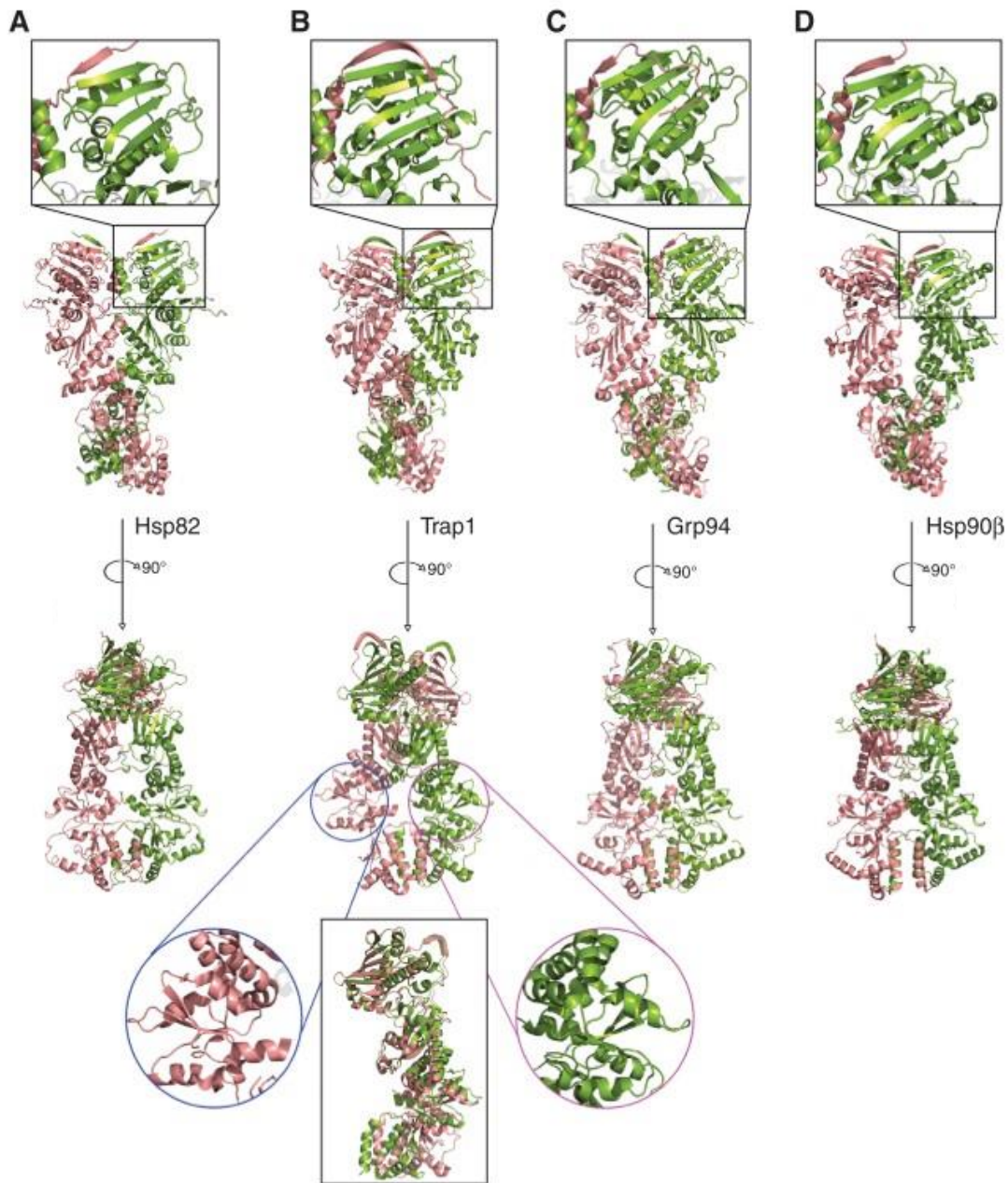
Slika 4. C-terminalna domena. (A) Trodimenzionalna struktura dimeriziranih CTD s označenim α -zavojnica. (B) Interakcije H4 i H5 dimera CTD-a. (C-D) Interakcije hidrofobnih aminokiselina i stvaranje vodikovih veza na sučelju H4 i H5 (Harris i sur., 2004)

2.5. Hsp90 u čovjeku

Svi članovi obitelji Hsp90 imaju sve opisane domene – NTD-u, središnju i CTD-u. Trodimenzionalna struktura ne razlikuje se previše, ali male funkcionalno značajne razlike vidljive su između Hsp90 homologa. Duplikacijom gena nastali su konstitutivno eksprimirane izoforme Hsp90 β i inducibilni Hsp90 α koji pripadaju skupini Hsp90A (citosolni Hsp90) te dijele oko 85% iste sekvence. Grp94 ili endoplazmatski Hsp90 nastao je za u ranoj evoluciji eukariota, a nastanak TRAP1 ostaje nejasan. Jedna od teorija upućuje na postojanje dva HtpG gena od kojih je jedan evoluirao u TRAP, a drugi u citosolni, ER i kloroplastni Hsp90 (Johnson, 2012). Hsp90 β/α , Grp94 i TRAP1 posjeduju ekstenziju na amino-kraju (pre-N domenu) dužine 10 – 15 aminokiselina koja nije prisutna u HtpG. U zatvorenoj strukturi pre-N domene svakog monomera stvaraju interakciju s drugim monomerom (Slika 5) (Huck i sur., 2017).

Citosolni Hsp90 ima dva strukturalna obilježja koja nisu prisutna ili izražena u drugim homolozima. Prvo, posjeduje fleksibilnu spojnicu koja pomaže čaperonu u ATPaznome ciklusu i konformacijskim promjenama. Drugo, citosolni Hsp90 posjeduje MEEVD motiv kojim interagira s kočaperonima. Hsp90 α i Hsp90 β slično interagiraju s glavnim kočaperonima te stresni uvjeti ne mijenjaju dinamiku kompleksa Hsp90-kočaperon. Hsp90 α je u stresnim uvjetima pokazao veću preferenciju za vezanjem supstrata.

Iako je NTD-a najkonzerviranija u obitelji Hsp90, vezanje nukleotida inducira velike konformacijske promjene u Grp94 koji nisu opažene u citosolnom Hsp90. Pre-N domena Grp94 esencijalna je za maturaciju supstrata i regulira ATPaznu aktivnost i dimerizaciju NTD-a (Huck i sur., 2017). Na CTD-i, Grp94 posjeduje KDEL umjesto MEEVD motiva koji je prisutan u citosolnom Hsp90. Kočaperon koji se može vezati na Grp94 jest CNPY3 (eng. *canopy fibroblast growth factor signaling regulator 3*) koji je specifičan za endoplazmatski retikulum (Liu i sur., 2010). Isto tako, TRAP1 nema MEEVD motiv, ali posjeduje vodeću sekvencu na amino kraju za ulaz u mitohondrij u kojemu nisu pronađeni kočaperoni. U mitohondriju, TRAP1 regulira ravnotežu između oksidativne fosforilacije i aerobne glikolize (Yoshida i sur., 2013). TRAP 1 je heterodimer u kojem je jedan monomer malo izvinut te je predložena ideja da se na njemu događa prva hidroliza ATP-a. Zatim drugi monomer zadobiva izvintu konformaciju, hidrolizira se ATP i monomeri se mogu vratiti u otvorenu konformaciju (Slika 5) (Elnatan i sur., 2017).



Slika 5. Homolozi Hsp90. (A) Hsp82, citosolni oblik u kvascu. (B) TRAP1, mitohondrijski Hsp90. U krugovima поближе pokazane domene u asimetričnoj konformaciji, a u pravokutniku ispod prikazani su poravnati monomeri. (C) Grp94, endoplazmatski Hsp90. (D) Hsp90 β , konstitutivni citosolni Hsp90. Gornji kvadranti pokazuju interakciju pre-N domene jednog monomera (ružičasto) sa drugim monomerom (zeleno).

3. Funkcije Hsp90

3.1. Kočaperoni

Kočaperoni igraju važnu ulogu u aktivaciji supstrata Hsp90. Kočaperone možemo podijeliti na one koje se vežu sa TPR-domenom i one koje se vežu drugim domenama na Hsp90, a prema djelovanju one koji reguliraju ATPaznu aktivnost ili interagiraju s nesmotanim proteinima (Wandinger i sur., 2006).

Jedan od najvažnijih kočaperona s TPR-domenama je Hop (eng. *Hsp70-Hsp90 organizing protein*) poznat pod imenom Sti1 (eng. *Stress inducible protein*) u kvascu. Povezuje čaperone Hsp70 i Hsp90 i tako sudjeluje u prenošenju supstrata s jednog čaperona na drugi i inhibira ATPaznu aktivnost Hsp90 (Prodromou i sur., 1999). Sti1 je monomer sa tri TPR-domene (TPR1, TPR2A i TPR2B) i dvije domene bogate asparaginskom kiselinom i prolinom (DP-domene). TPR1 ima veći afinitet za Hsp70, TPR2A za Hsp90, a TPR2B domena nije selektivna. Kristalna struktura TPR2A – TPR2B u prisutnosti pentapeptida MEEDV koji je inače dio CTD-e Hsp90 pokazuje da se TPR2A i TPR2B sastoje od tri TPR motiva, a svaki od njih stvara dvije α -zavojnice. TPR2B ne može vezati CTD-u jer mu nedostaje hidrofobni „džep“ za pozicioniranje metionina Hsp90, za razliku od TPR2A. Domene su povezane spojnicom koja ih prostorno postavlja u S-oblik zbog interakcija Arg 425, Tyr 390 i Glu 421. Rigidna spojnica bitna je za funkcioniranje Hop/Sti1 jer pravilno pozicionira TPR-domene (Slika 6A). TPR2B se pozicionira između Hsp90 dimera, vezujući se na središnju domenu Hsp90, i tako onemogućava ATPaznu aktivnost (Schmid i sur., 2012).

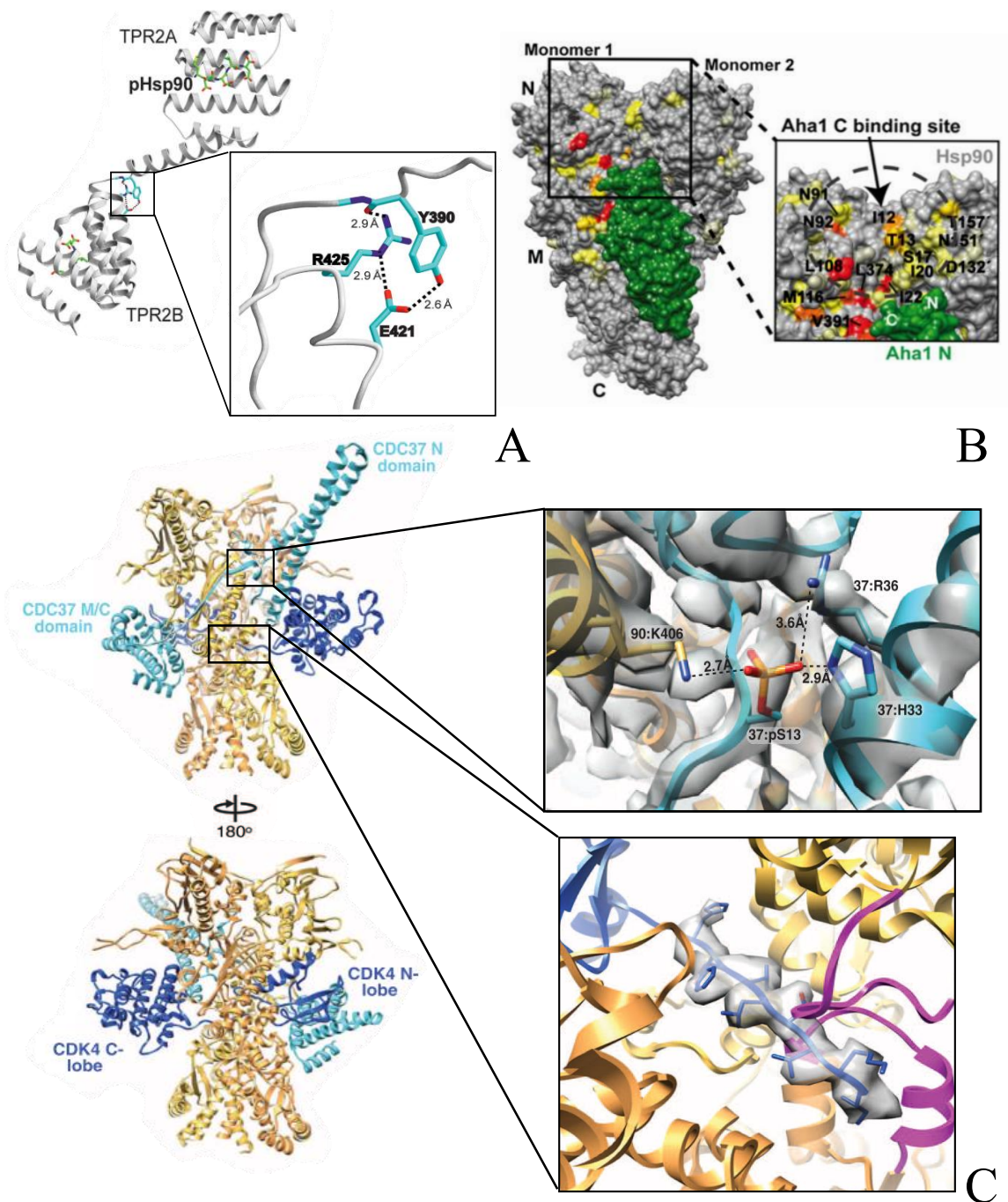
Sljedeći kočaperon koji se vezuje pomoću TPR-domene jest proteinska fostataza Ppt1 (Palmitoil-protein tioesteraza 1). Interakcija TPR-domene s Hsp90 nalikuje peptidil-proлил *cis/trans* izomerazama (PPIazama), ali *in vivo* nije potvrđena takva aktivnost. Ppt1 defosforilira Hsp90 tako da se TPR-domena vezuje za MEEDV motiv na Hsp90 (Wandinger i sur., 2006). Fosforilacijski status Hsp90 utječe na brzinu konformacije i maturaciju supstrata (Soroka i sur., 2012).

PPIaze su obitelj kočaperona Hsp90. U njih spadaju imunofilini Fkbp52 i Cyp40 koji se isto vežu na CTD-u. Većinom se vežu zajedno s kočaperonom Hop i djeluju u kasnim fazama ciklusa regulirajući koji će se supstrati vezati za kompleks kočaperona-Hsp90 (Li i sur., 2011).

Protein koji nema TPR-domenu, nego se vezuje za zatvorenu konformaciju Hsp90 dimera između NTD domena jest kočaperon p23 (u kvascu poznat kao Sba1) (Ali i sur., 2006). Dimer Hsp90 veže dvije p23 molekule pa nastaje kompleks Hsp90₂p23₂ i to pozitivnom kooperativnošću u fiziološkim uvjetima, ali samo u prisutnosti ATP-a u NTD-i. Kočaperon p23 utječe na vanjski dio aktivnog mjesta na NTD-i i tako usporava ATPazni ciklus koji je ključan za maturaciju steroidnih hormonskih receptora (Karagöz i sur., 2011).

Za razliku od p23 i Hop/Sti1 Aha1 je ATPazni aktivator koji se veže na NTD-u i središnju domenu. Aha1 se može podijeliti na dvije domene Aha1-N i Aha1-C. Aha1-N se samostalno može vezati za C-kraj NTD-e i središnju domenu Hsp90 u stanju kada nema ATP-a u veznom mjestu (Slika 6B) dok se Aha1-C može vezati za NTD-u samo uz prisutstvo nukleotida. Aha1-C interagira s aminokiselinama blizu ATP-veznog mjesta i prvom zavojnicom Hsp90 i tako može stabilizirati velike hidrofobne površine koje su izložene okolini kada NTD-e nisu dimerizirane (Retzlaff i sur., 2010). To može dovesti do brže konformacijske promjene i samim time ubrzati ATPaznu aktivnost (Hessling i sur., 2009). Jedna molekula Aha1 po Hsp90 dimeru je dovoljna za maksimalno ubrzavanje ATPazne aktivnosti (Retzlaff i sur., 2010).

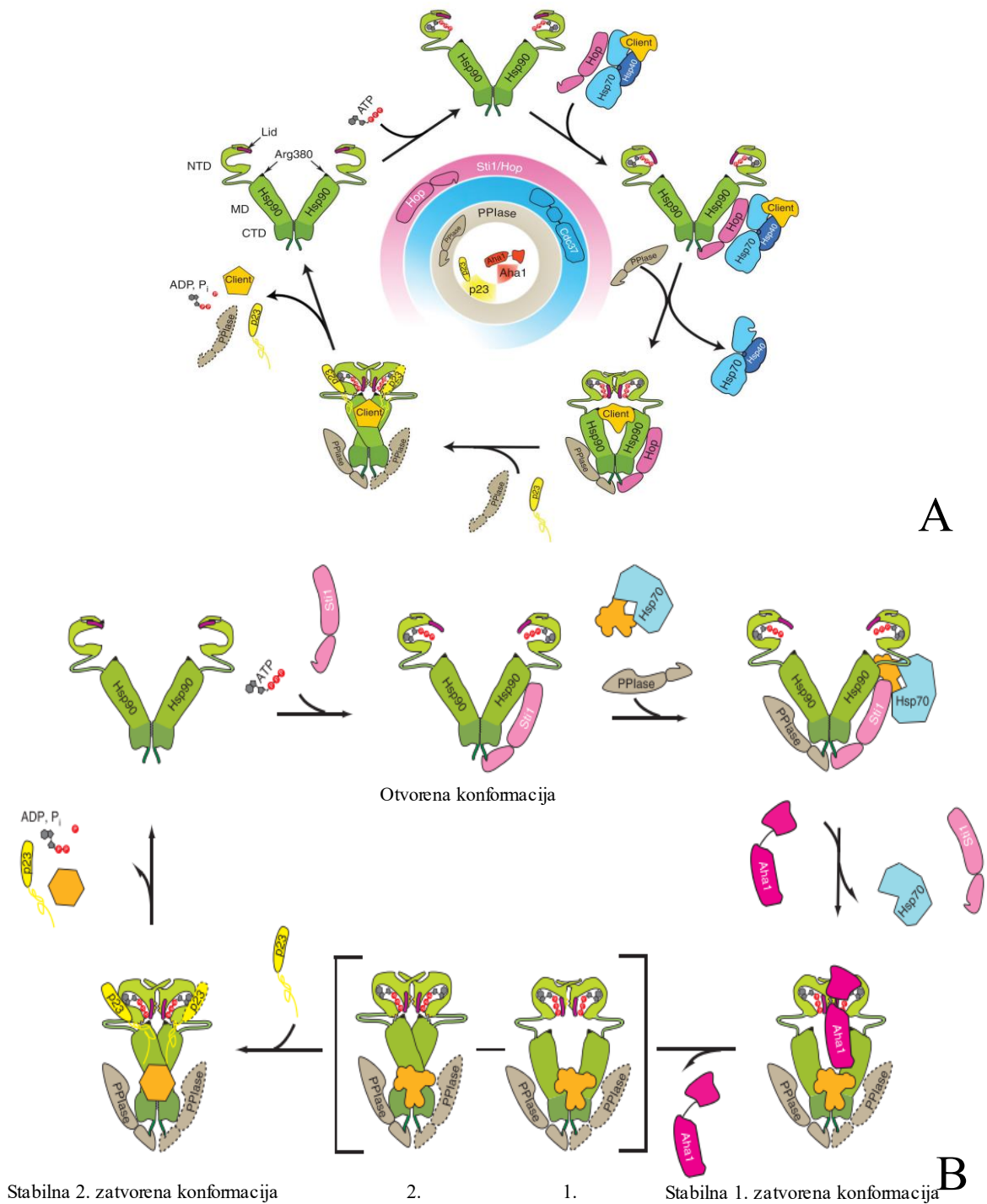
Polovica ljudskog kinoma regulirana je Hsp90 i Cdc37 (eng. *Cell division cycle 37*) kočaperonom. Nestrukturirani supstrat Cdk4 (Ciklin ovisna kinaza 4) stvara kompleks Hsp90-Cdc37-Cdk4 veličine 240 kDa (Slika 6C). Hsp90 poprima simetričnu zatvorenu konformaciju na koju se veže Cdc37 svojim dvjema domenama – M/C domenom i N domenom koje su spojene β-lancem. Cdc37 interagira vrlo slično kao p23. Isto tako, Cdk4 se spaja sa razdvojenim domenama Cdk4-C i Cdk4-N koje okružuju središnji dio dimera Hsp90. Domene su povezane β5-lancem koji sjeda u lumen Hsp90 (Slika 6C). Cdc37 sa svojom super-zavojnicom (eng. *coiled coil*) i Cdk4 interagiraju hidrofobnim interakcijama i vodikovim vezama. Fosforilacija na konzerviranom Ser¹³ kočaperona Cdc37 vrlo je važna za funkcioniranje kinaze. Ser¹³ stvara interakcije sa Cdc37-Arg³⁶ i Cdc37-His³³ stabilizirajući tako N-kraj super-zavojnice (Slika 6C) (Verba i sur., 2016).



Slika 6. Kočaperoni. (A) Hop domene TPR2A i TPR2B pozicionirane pomoću rigidne spojnice. Preuzeto iz Schmid i sur., 2012. (B) Aha1-N vezana na središnju domenu i NTD-u. Označeno područje ukazuje na aminokiseline koje vežu Aha1-C. Preuzeto iz Retzlaff i sur., 2010. (C) Kompleks Hsp90-Cdc37-Cdk4. Trodimenzionalna struktura kompleksa (lijevo), interakcije fosforilirnog Ser¹³ (gore desno), interakcije β5-lanca Cdk 4 s Hsp90 (dolje desno). Preuzeto iz Verba i sur., 2016. Slike (A) i (C) uređene u programu *Inkspace*.

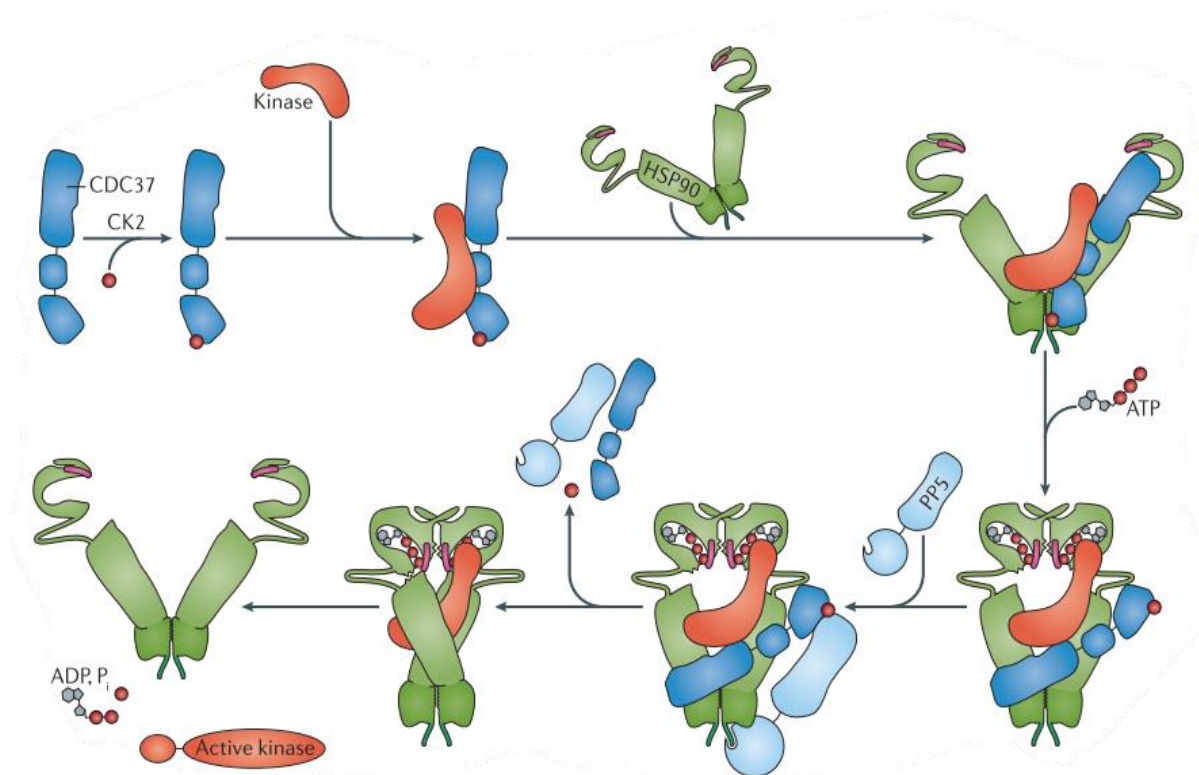
3.2. Konformacijski ciklus Hsp90

Velika raznolikost kočaperona koji reverzibilno vežu dimer Hsp90 omogućuju čaperonu više načina na koje može djelovati. Analize *in vitro* pokazuju njihov utjecaj na ATPaznu aktivnost i promjene konformacija u ciklusu. Omogućile su pogled na individualan utjecaj kočaperona te njihovo vezanje u određenim konformacijama. Da bi se vidjelo kako i u kojim fazama kočaperoni djeluju u stanici treba se istražiti njihovo međudjelovanje. Na primjer, delecijom gena za neke kočaperone uvidjena je smanjena ili uvećana aktivacija supstrata. Delecija gena za protein Sti1 negativno je utjecala na većinu supstrata dok je za neke bila neutralna. Takvi rezultati ukazuju da se samo neki supstrati prenose s Hsp70 na Hsp90. Iznenadujući rezultat je da Aha1 negativno utječe na procesiranje supstrata. Iako je aktivator ATPazne aktivnosti, Aha1 potiče dimerizaciju NTD-a te se Hsp90 nalazi u specifičnoj konformaciji koja nije kompetentna za vezanje supstrata (Sahasrabudhe i sur., 2017). Svaki se kočaperon veže za specifičnu konformaciju Hsp90. Postoje tri konformacije Hsp90 dimera. Otvorena konformacija, u obliku slova V, u kojoj su Hsp90 monomeri spojeni CTD-om, a NTD-e su slobodne. Zatvoreni oblik dimera postoji u dvije konformacije (Slika 7, označene u ciklusima). Prva zatvorena konformacija ima dimerizirane NTD-e, a druga dovodi u kontakt i središnje domene koje se rotiraju tako da je Hsp90 dimer kompaktniji (Ali i sur., 2006). Neki kočaperoni imaju preklapajuća mjesta interakcije s Hsp90 pa se stoga disocijacija jednog i asocijacija drugog kočaperona moraju događati simultano tijekom ciklusa. Kočaperon Hop se veže na jedan monomer u otvorenoj konformaciji koji inhibira, blokira konformacijske promjene, i održava otvorenu konformaciju iako se veže ATP. Nakon vezanja, Hop može stvoriti interakciju s Hsp70 od kojeg će se u sljedećem dijelu ciklusa preuzeti supstrat. Takva asimetrična struktura koja na samo jednom monomeru ima vezan Hop može sa drugim monomerom stvarati interakcije. Hop i PPIaze imaju slični afinitet prema CTD-i stoga se one vežu na drugi monomer te se nakon njih mogu vezati supstrati (Li i sur., 2011). Da bi se dogodila konformacijska promjena u drugi dio ciklusa potrebna je asistencija Aha1. Vezanjem Aha1 i PPIaze kočaperon Hop se u potpunosti miče, a Aha1 ubrzava postizanje prve zatvorene konformacije (Slika 7B). Prva zatvorena konformacija će napredovati u drugu koja će preferirati vezanje p23. Tijekom tih promjena kočaperon p23 zapravo kompetira za vezno mjesto s Aha1 i stabilizira drugu zatvorenu konformaciju (Li i sur., 2013). Jedan od supstrata koji ulazi u ovaj ciklus je glukokortikoidni receptor. Kada dimer Hsp90 prijeđe u drugu zatvorenu konformaciju što dovodi do hidrolize i otpuštanja aktivnog receptora (Lorenz i sur., 2014).



Slika 7. Konformacijski ciklus Hsp90. (A) Hsp90 prolazi kroz više konformacijskih stanja na koja se vežu kočaperoni. Njihova preferencija vezanja za određeno stanje prikazana je u središnjim kružnicama. Preuzeto iz Biebl i Buchner, 2019. (B) Ciklus koji specifično prikazuje faze djelovanja i vezanja kočaperona Aha1. Preuzeto iz Li i sur., 2013.

Cdc37 jedan je od najbolje proučenih kočaperona koji veže specifične supstrate – kinaze. Uz njega FKBP51, PPIaza koja je nađena u sisavcima, interagira s kinazama. Cdc37 uzima nestrukturiranu kinazu, potom se veže za NTD-u Hsp90 i inhibira ATPaznu aktivnost. Vežanjem ATP-a i uz pomoć PPIaze zatvara se dimer Hsp90. Defosforilacija Ser¹³ kazeinskom kinazom 2 (CK2) i serin-treonin proteinskom fosfatazom 5 (PP5) ključna je za funkciju Cdc37 i otpuštanje aktivne kinaze (Slika 8).



Slika 8. Konformacijski ciklus Hsp90 za kinaze. Crveni kružić označuje kazeinsku kinazu 2, PP5 označuje proteinsku fosfatazu 5.

4. Hsp90 potiče novitete u evoluciji

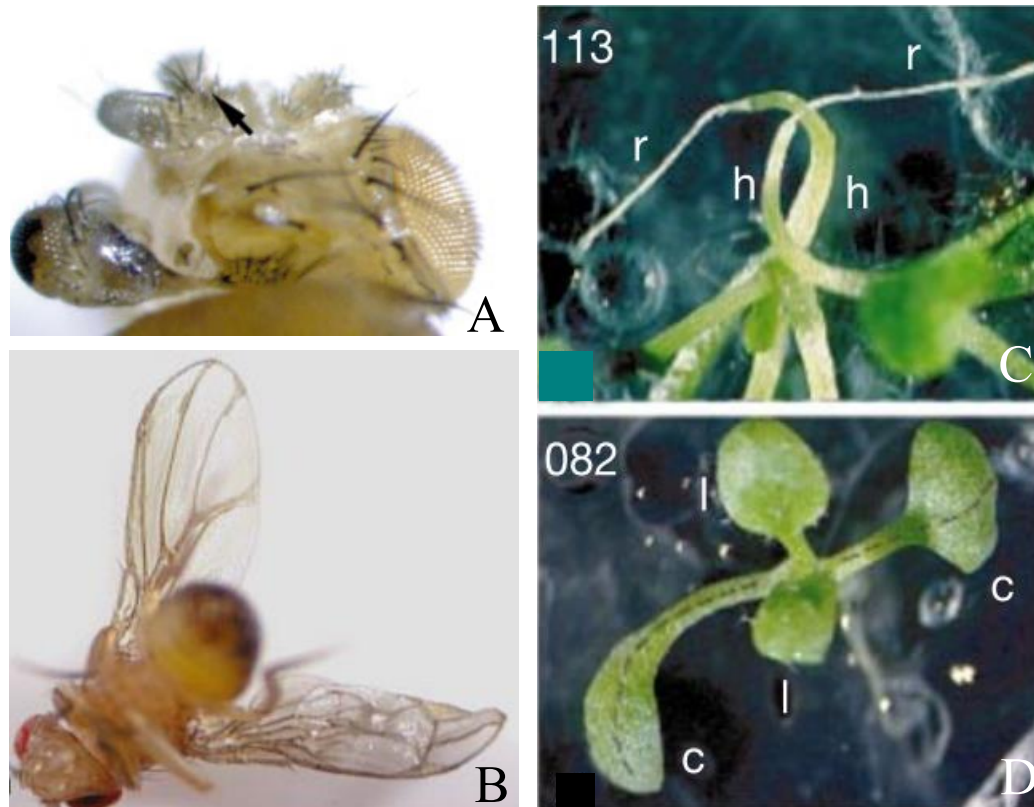
Vrste mogu dugo vremena ostati nepromjenjene, ali mogu se podvrći brzom diverzifikaciji. Hsp90 može poticati promjenu ili stagnaciju kroz okolišni stres, povezujući tako genetičku varijaciju i fenotipsku varijaciju (Jarosz i Lindquist, 2010). Među čaperonima Hsp90 se ističe po tome što su njegove razine u stanici vrlo visoke i kada stanica nije u stresnim uvjetima. Tako se stvara rezervoar čaperonskog kapaciteta (eng. *chaperone capacity*) u normalnim uvjetima. Hsp90 može djelovati na svojstva nekog organizma na dva načina. Kao pufer, smanjujući utjecaj genetičkih varijacija ili kao potencijator, pružajući novim varijantama ispoljavanje novih fenotipa. Djelujući kao pufer u normalnim uvjetima, rezervoar Hsp90 održava optimalno stanje signalnih puteva, dopuštajući tako da se genetičke varijacije akumuliraju bez posljedica za fenotip. Kada djeluje okolišni stres na rezervoar Hsp90, skrivene genetičke varijacije postaju vidljive. Kada Hsp90 rezervoar potencira utjecaje genetičke varijacije na fenotip varijante koje su su nestabilne mogu zadobiti nove funkcije pružajući tako brzu evoluciju novih osobina. U ovom slučaju kada je Hsp90 ograničen okolišnim stresom, osobine ovih varijanti nestaju (Taipale i sur., 2010).

Eukariotski modeli poput *Drosophila melanogaster* i *Arabidopsis thaliana* pokazali su pufersko svojstvo Hsp90. Genetička ili kemijska inhibicija Hsp90 funkcija uzrokovala je obilje novih fenotipa *D. melanogaster*. Razvili su se različiti fenotipi – polimorfizmi koji su inače bili „prikriveni“ aktivnošću Hsp90. Heterozigoti *Hsp90/wt* pokazali su svojstva poput deformacije oka s dodatnom antenom i zadebljanih žila na krilima (Slika 9A, B) (Rutherford i Lindquist, 1998). Tretman geldamicinom, inhibitorom Hsp90, na *A. thaliana* pokazao je fenotipe poput zavojitih hipokotila i deformiranih rozeta (Slika 9C, D) (Queitsch i sur., 2002).

Hsp90 potencira genetičku varijaciju tako da stabilizira metastabilne proteine. Većina mutacija destabilizira trodimenzionalnu strukturu proteina. Hsp90 može interagirati s njima i umjesto da akumulira genetičku varijaciju, rezervoar Hsp90 im omogućuje nove funkcije. Za sada Hsp90-ovisne onkogene mutacije su jedini jasni primjeri. Pa tako tirozin kinaza v-Src privremeno interagira s Hsp90, dok onkogeni oblik v-Src stvara stabilni kompleks (Taipale i sur., 2010).

Stopa evolucije protein-kodirajućih gena može se mjeriti kao omjer nesinonimnih promjena i sinonimnih promjena (dN/dS). Pomoću ove mjere određeno je da geni koji kodiraju Hsp90 supstrate evoluiraju brže od onih koji nisu supstrati čaperona (Lachowiec i sur., 2013). Dakle, dN Hsp90 supstrata je veći od onih koji nisu supstrati Hsp90. Hsp90 može utjecati na evoluciju kinaza i gensku ekspresiju. Dosljedno tome da Hsp90 dopušta veće akumulacije nesinonimnih promjena

u genima koji kodiraju za njegove supstrate, povećana stopa evolucije primjećena je kod sisavaca. Utjecaj Hsp90 na stopu evolucije kinaza povećava se kada se uzmu u obzir evolucijski udaljenije vrste. Takva akumulacija nesinonimnih promjena dopušta kinazama „istraživanje“ novih sekvenci i potenciranje noviteta u njihovim funkcijama, što ukazuje na to da je Hsp90 imao važnu ulogu u oblikovanju obitelji kinaza (Lachowiec i sur., 2015).



Slika 9. Novi fenotipi prilikom inhibicije Hsp90 u *D. melanogaster* i *A. thaliana*. (A) Deformacije oka i formacija nove antene (označena strelicom). (B) Zadebljane žile na krilima. Preuzeto iz Taipale i sur., 2010. (C) Zavojiti hipokotili. (D) Deformirane rozete. Označeni dijelovi: r – korijen, h – hipokotil, c – kotiledon, l – list. Preuzeto iz Queitsch i sur., 2002.

5. Neurodegenerativne bolesti

Hsp90 ima ulogu zaštite neuronskih proteina koji imaju tendenciju agregacije od akumulacije i stvaranja toksičnih agregata. Agregati se stvaraju kada krivo ili djelomično smotani proteini stvaraju interakcije i tako grade visoko uređene i nerazgranate strukture – fibrile i plakove. Bolest koju karakterizira agregacija amiloid- β i hiperfosforiliranog proteina tau jest Alzheimerova bolest. Tau stabilizira mikrotubule, ali kada postane hiperfosforiliran ima tendenciju stvoriti agregate. Hsp90 pomaže agregaciji proteina tau i pod određenim okolnostima pojačava njegovu toksičnost. Hsp90 zapravo pomaže da tau održava kinetiku mikrotubula, ali kada se tau počne akumulirati funkcija Hsp90 postaje problematična. Inhibirajući ATPaznu aktivnost Hsp90 u takvim okolnostima dovodi do degradacije proteina tau (Blair i sur., 2014). Inhibiranje Hsp90 može biti izazovno jer čaperon ima vrlo raznolike supstrate i uloge u stanici. S druge strane, kočaperoni imaju manje uloga u staničnim procesima. Regulacijom kočaperona specifično se može utjecati na protein Tau i amiloid- β (Zhao i sur., 2012).

Taloženje agregiranog α -sinukleina u Lewyjevim tjelešcima u stanicama moždanog debla i korteksa patološko je obilježje Parkinsonove bolesti (Pratt i sur., 2015). α -Sinuklein izoliran iz moždanog tkiva i analiziran u nedenaturirajućim uvjetima formira homotetramer molekulske mase 58 kDa. Nestrukturirani monomeri molekularne mase od 14 kDa lako se agregiraju i tvore fibrile slične amiloidima. Međutim, kod nativnog ljudskog tetramera α -sinukleina uviđena je mala ili nikakva agregacija. Destabilizacija tetramera prethodi pogrešnom savijanju i agregaciji α -sinukleina (Bartels i sur., 2011). Analize *in vitro* pokazale su da se u prisutnosti Hsp90 s vezanim ATP-om oligomeri α -sinukleina ne uspijevaju akumulirati u fibrile. S druge strane, kada je ATP odsutan, pretvorba iz oligomernog u fibrilno stanje je moguća. Inhibicija Hsp90-ATP ciklusa pomoću kočaperona kao što su p23 ili Sti1/Hop mogla bi pospješiti stvaranje topljivih oligomera, dok bi stimulacija pomoću Aha1 mogla potaknuti stvaranje amiloidnih fibrila (Bohush i sur., 2019).

Huntingtonova bolest je nasljedna neurodegenerativna bolest uzrokovana povećanim brojem ponavljanja CAG nukleotida u prvom egzonu gena koji kodira za protein huntingtin. Tijekom sinteze proteina, CAG ponavljanja se prevode u poliglutaminski lanac. Huntingtin s poliglutaminskim lancem vrlo je sklon agregaciji i ima tendenciju stvaranja inkluzijskih tjelešaca, koja su toksična za stanicu (Bohush i sur., 2019). Hsp90 interagira s N-terminalnim krajem huntingtina i zajedno s ubikvitin-specifičnom proteazom regulira agregaciju huntingtina.

Inhibicijom Hsp90 narušava se interakcija Hsp90 i huntingtina te dolazi do ubikvitinacije huntingtina (He i sur., 2016).

6. Zaključak

Čaperon Hsp90 prepoznat je kao dio vrlo bitne mašinerije u stanici. Zajedno s nizom svojih kočaperona bitan je regulator smatanja proteina koju su ključni u staničnoj proteostazi. Razrješene kristalne strukture izoformi iz Hsp90 obitelji dale su uvid u konzerviranost njegovih funkcija i u varijetet malih, ali bitnih razlika. Pomoću trodimenzionalnih struktura ustvrđeno je na koji način Hsp90 interagira i mijenja oblik nestrukturiranih proteina. Osim toga, pomoću struktura kočaperona opisale su se pojedine faze konformacijskog ciklusa Hsp90 i njegova ATPazna aktivnost.

Neka su se istraživanja usmjerila na utjecaj čaperona na evoluciju pa se tako Hsp90 smatra vrlo bitnim čaperonom koji određuje kako se genetička varijacija prevodi u fenotipsku raznolikost. Njegovo pufersko djelovanje sprječava da se geni ispolje, no djeluje li kao potencijator može uzokovati manifestaciju novih genotipova tako da omogućuje stvaranje novih varijanti. Stoga, čaperon Hsp90 također može potencirati evoluciju novih svojstava.

Čaperoni igraju ključnu ulogu u smatanju proteina i sprečavanju stvaranja agregata koji su glavno obilježje neurodegenerativnih bolesti. Stoga je bitno znati na koji se način aktivnost čaperona može regularati i tako spriječiti ili ublažiti simptome bolesti. Hsp90 i njegovi kočaperoni predstavljaju potencijalnu metu lijekovima koji bi inhibirali njihovu funkciju i tako smanjili formiranje agregata.

Do sada je velik dio istraživanja bio fokusiran na Hsp90 iz kvasca. Kvasac jest, i ostat će, izvrstan modelni organizam, ali jasno je da se novija istraživanja čaperona Hsp90 moraju fokusirati na izoforme iz složenijih organizama kao što su *Caenorhabditis elegans*, miševi i čovjek.

7. Literatura

- Ali, M. M. U., Mark Roe, S., Vaughan, C. K., Meyer, P., Panaretou, B., Piper, P. W., Prodromou, C., & Pearl, L. H. (2006). Crystal structure of an Hsp90-nucleotide-p23/Sba1 closed chaperone complex. *Nature*, *440*(7087), 1013–1017.
- Ban, C., & Yang, W. (1998). Crystal structure and ATPase activity of MutL: Implications for DNA repair and mutagenesis. *Cell*, *95*(4), 541–552.
- Bartels, T., Choi, J. G., & Selkoe, D. J. (2011). α -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. *Nature*, *477*(7362), 107–111. 4
- Biebl, M. M., & Buchner, J. (2019). Structure, function, and regulation of the hsp90 machinery. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *11*(9).
- Blair, L. J., Sabbagh, J. J., & Dickey, C. A. (2014). Targeting Hsp90 and its co-chaperones to treat Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *18*(10), 1219–1232.
- Bohush, A., Bieganowski, P., & Filipek, A. (2019). Hsp90 and its co-chaperones in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(20).
- Brinker, A., Scheufler, C., Von Der Mülbe, F., Fleckenstein, B., Herrmann, C., Jung, G., Moarefi, I., & Ulrich Hartl, F. (2002). Ligand discrimination by TPR domains. Relevance and selectivity of EEVD-recognition in Hsp70·Hop·Hsp90 complexes. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(22), 19265–19275.
- Chen, B., Zhong, D., & Monteiro, A. (2006). Comparative genomics and evolution of the HSP90 family of genes across all kingdoms of organisms. *BMC Genomics*, *7*, 1–19.
- Elnatan, D., Betegon, M., Liu, Y., Ramelot, T., Kennedy, M. A., & Agard, D. A. (2017). Symmetry broken and rebroken during the ATP hydrolysis cycle of the mitochondrial Hsp90 TRAP1. *ELife*, *6*, 1–20.
- Garrido, C., Gurbuxani, S., Ravagnan, L., & Kroemer, G. (2001). Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *286*(3), 433–442.
- Hainzl, O., Lapina, M. C., Buchner, J., & Richter, K. (2009). The charged linker region is an

- important regulator of Hsp90 function. *Journal of Biological Chemistry*, 284(34), 22559–22567.
- Harris, S. F., Shiau, A. K., & Agard, D. A. (2004). The crystal structure of the carboxy-terminal dimerization domain of htpG, the Escherichia coli Hsp90, reveals a potential substrate binding site. *Structure*, 12(6), 1087–1097.
- Hawle, P., Siepmann, M., Harst, A., Siderius, M., Reusch, H. P., & Obermann, W. M. J. (2006). The Middle Domain of Hsp90 Acts as a Discriminator between Different Types of Client Proteins. *Molecular and Cellular Biology*, 26(22), 8385–8395.
- He, W. T., Zheng, X. M., Zhang, Y. H., Gao, Y. G., Song, A. X., van der Goot, F. G., & Hu, H. Y. (2016). Cytoplasmic ubiquitin-specific protease 19 (USP19) modulates aggregation of polyglutamine-expanded ataxin-3 and huntingtin through the Hsp90 chaperone. *PLoS ONE*, 11(1), 1–16.
- Hessling, M., Richter, K., & Buchner, J. (2009). Dissection of the ATP-induced conformational cycle of the molecular chaperone Hsp90. *Nature Structural and Molecular Biology*, 16(3), 287–293.
- Huck, J. D., Que, N. L., Hong, F., Li, Z., Gewirth, D. T., Huck, J. D., Que, N. L., Hong, F., Li, Z., & Gewirth, D. T. (2017). Structural and Functional Analysis of GRP94 in the Closed State Reveals an Essential Role for the Pre-N Domain and a Potential Client-Binding Site Article Structural and Functional Analysis of GRP94 in the Closed State Reveals an Essential Role for the Pre-N Domain and a Potential Client-Binding Site. *Cell Reports*, 20(12), 2800–2809.
- Jarosz, D. F., & Lindquist, S. (2010). Hsp90 and environmental stress transform the adaptive value of natural genetic variation. *Science*, 330(6012), 1820–1824.
- Johnson, J. L. (2012). Evolution and function of diverse Hsp90 homologs and cochaperone proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1823(3), 607–613.
- Karagöz, G. E., Duarte, A. M. S., Ippel, H., Uetrecht, C., Sinnige, T., Van Rosmalen, M., Hausmann, J., Heck, A. J. R., Boelens, R., & Rüdiger, S. G. D. (2011). N-terminal domain of human Hsp90 triggers binding to the cochaperone p23. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America*, 108(2), 580–585.
- Lachowiec, J., Lemus, T., Borenstein, E., & Queitsch, C. (2015). Hsp90 promotes kinase evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 91–99.
- Lachowiec, J., Lemus, T., Thomas, J. H., Murphy, P. J. M., Nemhauser, J. L., & Queitsch, C. (2013). The protein chaperone HSP90 can facilitate the divergence of gene duplicates. *Genetics*, 193(4), 1269–1277.
- Li, J., Richter, K., & Buchner, J. (2011). Mixed Hsp90-cochaperone complexes are important for the progression of the reaction cycle. *Nature Structural and Molecular Biology*, 18(1), 61–67.
- Li, J., Richter, K., Reinstein, J., & Buchner, J. (2013). Integration of the accelerator Aha1 in the Hsp90 co-chaperone cycle. *Nature Structural and Molecular Biology*, 20(3), 326–331.
- Liu, B., Yang, Y., Qiu, Z., Staron, M., Hong, F., Li, Y., Wu, S., Li, Y., Hao, B., Bona, R., Han, D., & Li, Z. (2010). Folding of Toll-like receptors by the HSP90 paralogue gp96 requires a substrate-specific cochaperone. *Nature Communications*, 1(6), 79.
- López, A., Elimelech, A. R., Klimm, K., & Sattler, M. (2021). The Charged Linker Modulates the Conformations and Molecular Interactions of Hsp90. *ChemBioChem*, 22(6), 1084–1092.
- Lorenz, O. R., Freiburger, L., Rutz, D. A., Krause, M., Zierer, B. K., Alvira, S., Cuéllar, J., Valpuesta, J., Madl, T., Sattler, M., & Buchner, J. (2014). Modulation of the Hsp90 chaperone cycle by a stringent client protein. *Molecular Cell*, 53(6), 941–953.
- Louvion, J. F., Warth, R., & Picard, D. (1996). Two eukaryote-specific regions of Hsp82 are dispensable for its viability and signal transduction functions in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13937–13942.
- Meyer, P., Prodromou, C., Hu, B., Vaughan, C., Roe, S. M., Panaretou, B., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (2003). Structural and functional analysis of the middle segment of Hsp90: Implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions. *Molecular Cell*, 11(3), 647–658.
- Pratt, W. B., Gestwicki, J. E., Osawa, Y., & Lieberman, A. P. (2015). Targeting Hsp90/Hsp70-

- based protein quality control for treatment of adult onset neurodegenerative diseases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 55, 353–371.
- Prodromou, C., & Pearl, L. (2005). Structure and Functional Relationships of Hsp90. *Current Cancer Drug Targets*, 3(5), 301–323.
- Prodromou, C., Roe, S. M., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (1997). A molecular clamp in the crystal structure of the N-terminal domain of the yeast Hsp90 chaperone. *Nature Structural Biology*, 4(6), 477–482.
- Prodromou, C., Siligardi, G., O'Brien, R., Woolfson, D. N., Regan, L., Panaretou, B., Ladbury, J. E., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (1999). Regulation of Hsp90 ATPase activity by tetratricopeptide repeat (TPR)-domain co-chaperones. *EMBO Journal*, 18(3), 754–762.
- Queitsch, C., Sangster, T. A., & Lindquist, S. (2002). Hsp90 as a capacitor for genetic variation. *Nature*, 417(June), 618–624.
- Retzlaff, M., Hagn, F., Mitschke, L., Hessling, M., Gugel, F., Kessler, H., Richter, K., & Buchner, J. (2010). Asymmetric Activation of the Hsp90 Dimer by Its Cochaperone Aha1. *Molecular Cell*, 37(3), 344–354.
- Roe, S. M., Prodromou, C., O'Brien, R., Ladbury, J. E., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (1999). Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol and geldanamycin. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(2), 260–266.
- Rutherford, S. L., & Lindquist, S. (1998). Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, 396(6709), 336–342.
- Sahasrabudhe, P., Rohrberg, J., Biebl, M. M., Rutz, D. A., & Buchner, J. (2017). The Plasticity of the Hsp90 Co-chaperone System. *Molecular Cell*, 67(6), 947-961.e5.
- Scheibel, T., Weikl, T., & Buchner, J. (1998). Two chaperone sites in Hsp90 differing in substrate specificity and ATP dependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(4), 1495–1499.
- Schmid, A. B., Lagleder, S., Gräwert, M. A., Röhl, A., Hagn, F., Wandinger, S. K., Cox, M. B., Demmer, O., Richter, K., Groll, M., Kessler, H., & Buchner, J. (2012). The architecture of

- functional modules in the Hsp90 co-chaperone Sti1/Hop. *EMBO Journal*, *31*(6), 1506–1517.
- Soroka, J., Wandinger, S. K., Mäusbacher, N., Schreiber, T., Richter, K., Daub, H., & Buchner, J. (2012). Conformational Switching of the Molecular Chaperone Hsp90 via Regulated Phosphorylation. *Molecular Cell*, *45*(4), 517–528.
- Taipale, M., Jarosz, D. F., & Lindquist, S. (2010). HSP90 at the hub of protein homeostasis: Emerging mechanistic insights. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *11*(7), 515–528.
- Theodoraki, M. A., & Caplan, A. J. (2012). Quality control and fate determination of Hsp90 client proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, *1823*(3), 683–688.
- Tsutsumi, S., Mollapour, M., Prodromou, C., Lee, C. T., Panaretou, B., Yoshida, S., Mayer, M. P., & Neckers, L. M. (2012). Charged linker sequence modulates eukaryotic heat shock protein 90 (Hsp90) chaperone activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(8), 2937–2942.
- Verba, K. A., Wang, R. Y. R., Arakawa, A., Liu, Y., Shirouzu, M., Yokoyama, S., & Agard, D. A. (2016). Atomic structure of Hsp90-Cdc37-Cdk4 reveals that Hsp90 traps and stabilizes an unfolded kinase. *Science*, *352*(6293), 1542–1547.
- Wandinger, S. K., Suhre, M. H., Wegele, H., & Buchner, J. (2006). The phosphatase Ppt1 is a dedicated regulator of the molecular chaperone Hsp90. *EMBO Journal*, *25*(2), 367–376.
- Yoshida, S., Tsutsumi, S., Muhlebach, G., Sourbier, C., Lee, M. J., Lee, S., Vartholomaiou, E., Tatokoro, M., Beebe, K., Miyajima, N., Mohny, R. P., Chen, Y., Hasumi, H., Xu, W., Fukushima, H., Nakamura, K., Koga, F., Kihara, K., Trepel, J., ... Neckers, L. (2013). Molecular chaperone TRAP1 regulates a metabolic switch between mitochondrial respiration and aerobic glycolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(17).
- Zhao, H., Michaelis, M. L., & Blagg, B. S. J. (2012). Hsp90 Modulation for the Treatment of Alzheimer's Disease. In *Advances in Pharmacology* (Vol. 64). Elsevier Inc.

8. Životopis

Rođena sam 7. studenoga 2000. u Puli. Nakon završene Osnovne škole Jure Filipovića u Barbanu pohađala sam opći smjer u Gimnaziji Pula. Učestvovala sam na Državnom natjecanju iz biologije 2017. i 2018. godine. Upisala sam preddiplomski studij Molekularne biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu 2019. godine. Od 2021. godine volontiram kao mentorica u Znanstveno edukacijskom centru Višnjan gdje u sklopu programa Youth science camp osmišljam i provodim projekte za djecu. Volontirala sam 2020. godine na Noći muzeja u Prirodoslovnom muzeju u Zagrebu, 2021. godine na Simpoziju studenata biologije i 2022. na Noći biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Za vrijeme studija odradila sam praksu na Zavodu za Animalnu fizilogiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.