

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.21.045

辅分子伴侣调控热休克蛋白 HSP90 功能的研究 *

张丽萍 戚欣 李静[△]

(中国海洋大学医药学院 海洋药物教育部重点实验室分子药理室 山东 青岛 266003)

摘要:热休克蛋白 90(HSP90)是一类 ATPase 依赖性蛋白,作为分子伴侣,可在辅分子伴侣协助下,通过自身构象改变,参与众多细胞的生物学事件,从而协助新合成蛋白的正确折叠、成功装配、功能稳定及异常蛋白的降解过程。HSP90 功能的发挥依赖于辅分子伴侣及氨基末端结合的核苷酸。辅分子伴侣是一类可与分子伴侣(如,HSP90)结合并调节其功能的蛋白,通过参与 ATPase 循环从而调节 HSP90 分子伴侣的功能。近年来,辅分子伴侣的研究得到越来越多的关注,本文就辅分子伴侣调控 HSP90 功能的作用进行综述。

关键词:辅分子伴侣; HSP90; ATP

中图分类号:Q591.2;R966 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)21-4168-05

Investigation of Regulatory Roles of Co-Chaperones on HSP90 Function*

ZHANG Li-ping, QI Xin, LI Jing[△]

(Laboratory of Molecular Pharmacology, Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, Marine Drug and Food Institute, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266003, China)

ABSTRACT: Heat shock protein 90 (HSP90) interacts with its client proteins in a dynamic ATP-dependent cycle. As a molecular chaperone, this protein plays a critical role in intracellular biological events, including proteins folding, transport/assembling as well as stabilizing proteins against heat shock and aiding in proteins degradation. HSP90 function is regulated by co-chaperones-HSP90 complexes and adenine nucleotides binding to the HSP90 amino terminus. Co-chaperones are non-client-binding partners of molecular chaperones (such as HSP90), and may be initially defined as proteins that take part in regulation function of chaperones, most of co-chaperones do not interact with clients directly, they can play a pivotal role in ATPase cycle by causing conformational change of HSP90 and thus regulating interactions between HSP90 and its client proteins. The functions of co-chaperones have been thoroughly investigated in the past decade, this review will focus on the regulatory roles of co-chaperones on HSP90 function.

Key words: Co-chaperones; Heat shock protein 90; ATP

Chinese Library Classification(CLC): Q591.2; R966 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)21-4168-05

热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)是生物进化过程中高度保守的一类蛋白,普遍存在于原核和真核生物中。HSP90 在细胞中常以 HSP90 α -HSP90 α 、HSP90 β -HSP90 β 同源二聚体存在,也存在 HSP90 α -HSP90 β 异源二聚体。单体 HSP90 结构比较简单(见图 1),依次为具有 ATPase 活性的 N-末端结构域(NTD);连接 NTD 与 MD 的连接区域(charged linker region,CLR);与客户蛋白结合的中间域(MD)及含 ATP 结合位点并能够调节 HSP90 二聚化的 C-末端区域(CTD)^[1]四部分组成。HSP90 的每个 CTD 都含有一个 TPR(tetratricopeptide repeat,三十四肽重复序列)模体的识别位点,尾端一段保守的 MEEVD 五肽序列参与了 HSP90 与辅分子伴侣的相互作用。

HSP90 是一种 ATPase 依赖性蛋白,HSP90 ATPase 的活性调控涉及到一系列复合物构象的改变。早期的生物化学研究表明,ATP 的结合调控 HSP90 构象转变,在 ATP 结合前,HSP90



图 1 HSP90 单体结构

Fig.1 Domain structure of HSP90

以 V 字构象(即开放状态)存在,ATP 的结合后触发了一系列的构象转变,最后致使 HSP90 形成 N-末端二聚化的更为紧凑的构象(即关闭状态)^[2]。后续的结构研究和诱变试验中,发现 ATP 水解能够偶联复合物结构重排^[3]。这些重排过程就称为 HSP90 分子伴侣循环(图 2)。

近年来研究发现,HSP90 是细胞内最活跃分子伴侣蛋白之一。可在辅分子伴侣协助下,通过自身构象改变,参与众多细胞的生物学事件,从而协助新合成蛋白的正确折叠、成功装配、功能稳定及异常蛋白的降解过程^[45]。本文就辅分子伴侣在 HSP90 功能调控中的作用进行综述。

* 基金项目:国家高技术研究发展(863)计划项目(2011AA09070104)

作者简介:张丽萍(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤药理学,电话:0532-82031981,E-mail:zhangliping559@163.com

[△]通讯作者:李静,电话:0532-82031980,E-mail:ljililac@163.com

(收稿日期:2013-10-25 接受日期:2013-11-23)

1 辅分子伴侣

辅分子伴侣是一类 HSP90/HSP70 非客户蛋白结合类型的,最初被定义为可调节其他分子伴侣功能的蛋白。根据辅分子伴侣的结构特点,可以分为具有 TPR 模体结构类型和不具有 TPR 模体结构类型两类。TPR 模体结构是由 34 个氨基酸组成的序列单元经串联重复排列而成。6 个连贯的 α -螺旋,以常规的右手超级螺旋方式紧密结合,产生的两性凹槽能够与多肽的 7-12 个残基相互作用。大部分辅分子伴侣具有 TPR 模体结构,TPR 的结合位点位于 HSP90 C-末端 MEEVD 区域^[6]。例如:p60Hop/Sti1、Chip、FKBP51/52、PP5/Ppt1 及线粒体输出蛋白 Tom70 等。不含 TPR 模体结构的辅分子伴侣主要包括 Aha1/Hch1、p23/Sba1、Sgt1 及 p50/Cdc37。常见 HSP90 辅分子伴侣见表 1。

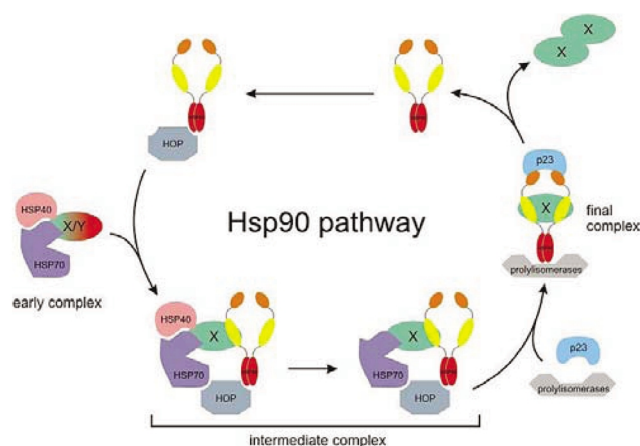


图2 HSP90 分子伴侣循环

Fig.2 HSP90 chaperone cycle

表 1 HSP90 辅分子伴侣

Table 1 Major co-chaperones associated with HSP90

Co-Chaperone (Vertebrates)	Co-Chaperone (Yeast)	Effect on HSP90 ATPase Activity	HSP90 Binding Site	Characteristics
Hop	Sti1	Inhibits(Sti1)	C-terminus	TPR domains, binds HSP70 and HSP90
PP5	Ppt1	None	C-terminus	TPR domain, phosphatase domain
FKBP51,52	—	None	C-terminus	TPR domain, Peptidyl-prolyl isomerase
Cyp40	Cpr6,Cpr7	None	C-terminus	peptidyl-prolyl isomerase
—	Tah1	None	C-terminus	TPR domain
TTC4	Cns1	None	C-terminus	TPR domain, activates ATPase activity of HSP70
XAP2	—	None	C-terminus	TPR domain
AIPL1	—	None	C-terminus	TPR domain
Tpr2	—	None	C-terminus	TPR domain and J domain
GCUNC-45	—	None	N-terminus	TPR domain
p23	Sba1	Inhibits	N-terminus	Stabilizes closed conformation
P50/Cdc37	Cdc37	Inhibits	N-terminus	Binds kinase clients
Sgt1	Sgt1	None	N-terminus	TPR domain and domain with homology to p23
Aha1	Aha1,Hch1	Stimulates	M-domain	Potent activator of HSP90 ATPase activity
Hip	—	None	None	TPR domain, inhibits ATPase activity of HSP70
Chip	—	None	None	TPR domain, ubiquitin ligase, binds HSP70
HSP110	Sse1	None	None	Nucleotide exchange factor for HSP70

2 辅分子伴侣参与的 HSP90 功能调控

HSP90 功能的发挥依赖于分子伴侣复合物及其氨基末端结合的核苷酸。在真核细胞中,已有 20 多种辅分子伴侣对 ATPase 的激活有着正向或负向的调控作用,通过加速或减慢整个 ATP 循环速率,调节客户蛋白-分子伴侣特异性复合物的形成^[7-9],实现 HSP90 分子伴侣的功能。不同辅分子伴侣在细胞内与 HSP90 存在竞争性结合,这种竞争性对于 HSP90 功能调控是非常重要的。另外,辅分子伴侣自身的翻译后修饰,也丰富了 HSP90 功能的调控模式^[10]。

2.1 Hop/Sti1

Hop/Sti1 是第一个被发现的具有 ATPase 活性抑制的辅分子伴侣^[11]。作为某些客户蛋白的脚手架,能在伴侣循环前期招

募 HSP70 及底物结合蛋白与 HSP90 结合,从而抑制蛋白装配期 ATP 的转换过程。Hop/Sti1 由 3 个 TPR 模体组成,其中有两个 TPR 模体富含天冬氨酸和脯氨酸,即 DP 结构域。Hop/Sti1 自身并没有伴侣活性,TPR 结构的存在使得 Hop/Sti1 能够同时与 HSP90 和 HSP70 结合,促进底物蛋白的转运。最初人们发现,Hop 能够结合在 HSP90 C-末端 MEEVD 序列形成 HSP90-Hop 复合物,随后,HSP90 还可以招募肽基丙基异构酶 FKBP52 与之结合,这说明,一种 TPR 蛋白结合在 HSP90 C-末端的 MEEVD 域后并不会阻碍 MEEVD 域与其它 TPR 蛋白的结合^[11]。后期通过生物化学及结构化学研究表明,Hop/Sti1 除了可以与 HSP90 C 末端结合外,还可以与 HSP90 其他多位点结合^[12]。Hop/Sti1 对 ATPase 活性抑制作用并不依赖于 ATP,相反,很可能是在 ATPase 循环停滞时参与了 HSP90 构象的稳

定。但由于缺乏高分辨率的 HSP90-Hop/Sti1 复合物的结构解析, Hop/Sti1 对 HSP90 ATPase 活性的抑制机制仍未被阐明^[13]。Pimienta G 等^[14] 人研发出一种新的抑制剂 C9, 能够破坏 Hop/Sti1-HSP90 两者间的相互作用, 在多种乳腺癌细胞株中引起细胞周期阻滞、诱导凋亡发生、逆转代谢特性等。敲除 Hop, 能引起多种 HSP90 客户蛋白的降解 (如: HER2、Bcr-Abl、c-Met、Src 等), 表明 Hop/Sti1 在调节客户蛋白稳定性和侵袭转移信号转导通路中也发挥了重要作用。

2.2 Cdc37

Cdc37 是细胞中重要的支架适配器, 其结构中并未发现 TPR 结构。不同于 Hop/Sti1, Cdc37 所导致的 HSP90 ATPase 活性抑制机制已被深入研究。Peal 课题组经研究证实, Cdc37 与 HSP90 N-末端核苷酸 ATP 结合位点结合后, 能阻碍 HSP90 N-末端二聚化, 进一步研究发现, Cdc37 中间区域 Arg167 还能与 HSP90 Glu47 形成氢键, 通过促进 ATP 水解, 进一步抑制 HSP90 ATPase 活性^[15]。作为激酶类特异性辅分子伴侣, Cdc37 参与了 HSP90 对激酶类蛋白的装配过程, Cdc37 N 末端可直接与激酶蛋白结合, C 末端与 HSP90 结合。

Cdc37 自身翻译后修饰在 HSP90 功能调控中也发挥了重要作用。CK2 依赖性的 Cdc37 磷酸化形式(p-Ser13-Cdc37)对于 HSP90 招募激酶类蛋白非常重要, 但却并不影响 HSP90 与 Cdc37 的结合亲和力。研究表明, Cdc37 磷酸化状态更易于增强细胞对 HSP90 抑制剂的敏感性^[16]。此外, 由 Src 激酶家族 Yes 介导调节的 Cdc37 酪氨酸磷酸化, 对于分子伴侣循环后期自身释放及其他分子伴侣的招募发挥了重要作用。Wanping Xu 等人通过对酪氨酸磷酸化位点研究发现, Cdc37 在 Y4、Y298 位点的磷酸化可促进 Cdc37 在分子复合物上的解离, 但却并不影响 Cdc37-HSP90 的相互作用^[17]。

2.3 Pp5/Ppt1

Pp5/Ppt1 作为蛋白磷酸酶, 能通过 N-末端 TPR 模体与 HSP90 相互作用。在酵母菌中 Ppt1 与 HSP90 结合后能引起 HSP90 的去磷酸化, 敲除 Ppt1 将导致 HSP90 超磷酸化, 削弱 HSP90 与客户蛋白之间的结合活性, 这说明辅分子伴侣对 HSP90 磷酸化形式的紧密调节与客户蛋白的有效转运是密切相关的。而 Vaughan 等人发现, Pp5/Ppt1 能特异性的降低 Cdc37-HSP90 中 p-Ser13-Cdc37 的磷酸化水平, 从而负向调节 HSP90-Cdc37 与客户蛋白的分子伴侣作用, 最终影响到客户蛋白的成熟。但 Pp5/Ppt1 并不会影响单独存在的 Cdc37 磷酸化。在酵母菌中 Ppt1 过表达可与 HSP90 抑制剂 GA 协同致死; 在肿瘤细胞中, Pp5 过表达则与 Cdc37 的去磷酸化、Raf-1 蛋白的降解及 MAPK 通路的活性抑制密切相关^[18]。

2.4 Sba1/p23

不同于其他辅分子伴侣, Sba1/p23 并不参与客户蛋白的传递, 主要参与复合物的稳定过程。Sba1/p23 对于 ATP 结合状态下的 HSP90 的单体或二聚体形式都具有很强的结合力, 与 HSP90 结合后能增强 HSP90 与 AMP-PNP (腺苷-磷酸-嘌呤核苷磷酸化酶) 的结合能力, 抑制 ATPase 活性。Sba1/p23 抑制 HSP90 ATPase 活性的机制不同于 Hop/Cdc37/p50, 主要通过 HSP90 N 末端 ATP 结合位点结合, 稳定 HSP90-客户蛋白

高亲和力的结合状态, 同时延缓 ATP 水解, 延长客户蛋白在 HSP90 复合物中的保留时间^[19], 抑制 HSP90 ATPase 活性的发挥。此外, Sba1/p23-HSP90 结合后也能够拮抗 HSP90 抑制剂与 HSP90 的结合。

有趣的是, 在 HeLa 细胞中有 90 % 的 p23 与 HSP90 共定位, 而在酵母菌中却仅有 25 % - 31 % 的 Sba1 与 HSP90 结合, 后续 Echtenkamp 等^[20] 人通过研究提出 Sba1 和酵母菌中 HSP90 是同时但却独立的与多蛋白复合物结合的假设, 从而解释了该现象。

最近, Zheng 等人报道了关于脊柱动物的 NudC 和 NudC 样家族蛋白的 CS 区域结构的三维结构, 结果表明人源 NudC 家族蛋白与 Sba1 和 p23 类似, 发挥着对 HSP90 ATPase 活性抑制作用, 但进一步的分子机制却尚未报道^[21]。

2.5 Sgt1

Stg1 在植物、动物中对免疫应答的调控作用依赖于 HSP90。Stg1 由三个保守域组成, 依次为含有 TPR 结构并能介导 HSP90-Skp1 结合的 N-末端, 介导 Stg1 结合到 HSP90 的位于 Stg1 中间区域的 CS(CHORD and Sgt1)区及其特有的 C-末端 SGS 区。尽管 CS 区域与 Sba1/p23 具有同源性, 但却不能发挥类似 Sba1/p23 的 HSP90 ATPase 活性抑制的作用。Sgt1 结合在 HSP90 N-末端^[22], 远离分子盖(molecular lid)和 ATP 结合位点, 虽然 Stg1 结合后并不会影响到 HSP90 ATPase 活性, 但却能招募第二辅分子伴侣 (植物免疫应答相关的 Rar1 和动物免疫应答相关的 Chp1、melusin)形成复合物。研究表明, Rar1 能通过刺激 ATP 水解, 维持 Rar1-HSP90-Stg1 复合物稳定的 ADP 结合状态, 从而发挥微弱的 HSP90 ATPase 激活活性^[23]。

2.6 Aha1

辅分子伴侣 Aha1, 与 Sba1/p23 一样, 也不参与客户蛋白的装载。是辅分子伴侣中为数不多的 HSP90 ATPase 激活类蛋白。结构研究发现, Aha1 可与 HSP90 MD 区域 Arg380 结合, 促进 ATP 水解构象的转变, 从而激发 HSP90 ATPase 近 10 倍的活性。全长的 Aha1 具有更强的 ATPase 激活潜力^[24]。随后的核磁共振(NMR)技术分析进一步表明, Aha1 同样能结合在 HSP90 二聚体的 N-末端, 与 Hop、p23 发生竞争性结合^[25]。Johannes^[26] 课题组提出了 Aha1 不对称激活机制, Aha1 结合 HSP90 后, 能有效激活 HSP90 的单体活性, 即一个单体可通过自身构象转变调控 ATPase 活性, 另一个单体调控客户蛋白的装配。Aha1 结合后将引起 HSP90 关闭构象, 加速 ATPase 循环进程。后期又通过荧光共振能量转移技术 (FRET) 再次证明, Aha1 与 HSP90 结合后可发生诱导契合反应, 加速 HSP90 跳过 I1 状态 (中间复合体状态) 直接进入 ATPase 循环 I2 状态 (即 N-末端二聚化状态)。至此, Aha1 对于 HSP90 功能调控机制已慢慢清晰, 然而其精确的调控机制仍旧需要结构及生物化学方面的进一步研究。

2.7 Immunophilins

免疫亲和素是一类可与免疫抑制剂结合的细胞受体蛋白。在高等真核生物中, 存在三种可与 HSP90 相互结合的免疫亲和素蛋白, FKBP51、FKBP52 和 Cyp40; 而在酵母菌中只有 Cpr6 和 Cpr7 两种。大多数的免疫亲和素是通过 TPR 结构与

HSP90 结合。

Cpr6, 作为 HSP90 免疫亲和素类辅分子伴侣, 可微弱的刺激 HSP90 ATPase 活性, 对闭合状态 HSP90 亲和力更强。尽管 Cpr6 与 Cpr7 具有 47 % 的序列同源性和 38 % 的序列一致性, 但在体内的作用却存在些许差异。研究发现, Cpr7 缺失会导致生长缺陷, 但却不能通过过表达 Cpr6 得以补偿。FKBP52 通过 TPR 序列与 HSP90 结合, 却不能直接激活 HSP90 ATPase 活性, FKBP52 需要通过激活与 GR(糖皮质激素)的结合活性, 从而间接激活 ATPase 活性。CK2 可通过磷酸化 FKBP52 Thr-143 位点, 调控 FKBP52 与 HSP90 的结合^[27]。FKBP59, 尽管能够激活 HSP90 中 GR 结合的活性区, 但却不能激活 HSP90 ATPase 活性。但由于缺乏免疫亲和素与 HSP90 复合物的相关结构报道, 免疫亲和素在 HSP90 复合物的具体作用机制也不得而知。近期 Johannes Buchner 等^[28]人联合荧光共振能量转移技术(FRET)与分析超速离心技术(aUC), 模拟分析了 HSP90- 辅分子伴侣循环过程中的相互作用。结果发现, Cpr6 能增强 Aha1 与 HSP90 结合亲和力, 并促进分子伴侣循环的进行。此外, 通过与 Aha1 协同, 还能与 Hop/Sti1 竞争性结合在 Hsp90 C- 末端, 替换 Hop/Sti1, 释放因其而导致的 HSP90 ATPase 抑制活性。

2.8 其他辅分子伴侣

Tah1 和 Pih1, 作为客户蛋白招募性质的辅分子伴侣, 与染色质重塑复合物及小分子核糖核蛋白 (RNP) 成熟密切相关。Tah1 通过 TPR 与 HSP90 相互作用, 并通过其 C- 末端与 Pih1 相结合, 从而稳定 Pih1。Tah1-Pih1 复合物通过阻滞 HSP90 ATPase 循环, 为 HSP90 接受客户蛋白进入 RNP 装配做准备^[29]。

作为伴侣循环后期参与的辅分子伴侣, CHIP 能通过 TPR 结构与 HSP90、HSP70 结合。此外, 其含有的泛素化连接酶区域与 HSP90 蛋白酶体降解的机制密切相关。在 CHIP 与 HSP90 结合后, Hop 和 p23 被替换下来, 并伴随着客户蛋白的泛素化降解^[30]。因此, CHIP 可被作为一种释放型辅分子因子。

GCUNC-45 通过 TPR 模体能够结合在 HSP90 不同位点, 通过与 HSP90 结合能抑制由 Aha1 激活的 HSP90 ATPase 活性, 其作用模式并不清楚。这种活性抑制限制了伴侣循环中对于孕激素受体蛋白的装载过程, 然而却又可被 FKBP52 逆转^[31]。

3 结束语

HSP90 的构象转变对于其作为分子伴侣行使功能具有重要意义, 而辅分子伴侣在调控 HSP90 功能中也发挥了重要作用。本文通过探讨辅分子伴侣在调控 HSP90 ATPase 活性中的作用发现, 辅分子伴侣很可能是由于不同构象 HSP90 所持有的不同 ATPase 活性而被招募, 其中已有部分辅分子伴侣被发现能够调节 HSP90 ATPase 活性(如: Hop, Aha1, Cdc37)。但至今为止, 辅分子伴侣协助参与的 HSP90 调控客户蛋白的具体机制尚未可知。未来, 深入分析 HSP90 分子伴侣机制, 阐明影响辅分子伴侣间相互作用及构象循环过程的机制, 不仅有助于我们理解胞内蛋白正确折叠的机制, 更有助于人类疾病的治疗。随着人们对越来越多特异性分子伴侣作用的深入研究, 相比于靶向 HSP90 治疗, 靶向辅分子伴侣 /HSP90 相互作用抑制剂的研发将成为一个新的研究热点。

参考文献(References)

- [1] Li J, Sun L, Xu F, et al. Structure insights into mechanisms of ATP hydrolysis and the activation of human heat-shock protein 90[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2012, 44(4): 300-306
- [2] Sullivan W, Stensgaard B, Caucutt G, et al. Nucleotides and two functional states of HSP90[J]. Biol Chem, 1997, 272(12): 8007-8012
- [3] Chadli A, Bouhouche I, Sullivan W, et al. Dimerization and N-terminal domain proximity underlie the function of the molecular chaperone heat shock protein 90[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(23): 12524-12529
- [4] Didenko T, Duarte AM, Karagoz GE, et al. HSP90 structure and function studied by NMR spectroscopy [J]. Biochimica Biophys Acta, 2012, 1823(3): 636-647
- [5] Zuehlke A, Johnson JL. HSP90 and co-chaperones twist the functions of diverse client proteins[J]. Biopolymers, 2010, 93(3): 211-217
- [6] Jason C Young, Wolfgang M J Obermann, F Ulrich Hartl. Specific binding of tetratricopeptide repeat proteins to the C -terminal 12-kDa domain of HSP90[J]. Biol. Chem, 1998, 273(29): 18007-18010
- [7] F Ulrich Hartl. Chaperone-assisted protein folding: the path to discovery from a personal perspective[J]. Nat Med, 2011, 17(10): 1206-1210
- [8] Tirolis-Cepeda AO, Ramos CH. An overview of the role of molecular chaperones in protein homeostasis. Protein [J]. Protein Pept Lett, 2011, 18(2): 101-109
- [9] Taipale M, Jarosz DF, Lindquist S. HSP90 at the hub of protein homeostasis :emerging mechanistic insights [J]. Nature Review Molecular Cell Biology, 2010, 11(7):515-528
- [10] Mollapour M, Neckers L. Post-translational modifications of HSP90 and their contributions to chaperone regulation [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823(3):648-655
- [11] Gava LM, Gonçalves DC, Borges JC, et al. Stoichiometry and thermodynamics of the interaction between the C-terminus of human 90kDa heat shock protein HSP90 and the mitochondrial translocase of outer membrane Tom70 [J]. Arch Biochem Biophys, 2011, 513(2): 119-125
- [12] Onuoha SC, Coulstock ET, Grossmann JG, et al. Structural studies on the co-chaperone Hop and its complexes with HSP90[J]. J Mol. Biol, 2008, 379(4): 732 -744
- [13] Scheufler C, Brinker A, Bourenkov G, et al. Structure of TPR domain-peptide complexes: critical elements in the assembly of the Hsp70-Hsp90 multi-chaperone machine [J]. Cell, 2000, 101 (2): 199-210
- [14] Pimienta G, Herbert KM, Regan L. A compound that inhibits the HOP-HSP90 complex formation and has unique killing effects in breast cancer cell lines[J]. Mol Pharmacol, 2011, 8(6): 2252-2261
- [15] Roe SM, Ali MM, Meyer P, et al. The mechanism of Hsp90 regulation by the protein kinase specific co-chaperone p59(Cdc37)[J]. Cell, 2004, 116(1): 87-98
- [16] Bansal PK, Mishra A, High AA, et al. Sgt1 dimerization is negatively regulated by protein kinase CK2-mediated phosphorylation at Ser361 [J]. J Biol Chem, 2009, 284(28): 18692-18698
- [17] Xu W, Mollapour M, Prodromou C, et al. Dynamic Tyrosine Phosphorylation Modulates Cycling of the HSP90-P50CDC37-AHA1 Chaperone Machine[J]. Molecular Cell, 2012, 47(3): 434-443

- [18] Vaughan CK., Mollapour M, Smith J.R, et al. HSP90-dependent activation of protein kinases is regulated by chaperone-targeted dephosphorylation of Cdc37[J]. *Mol Cell*, 2008, 31(6): 886-895
- [19] Freeman BC., Felts SJ, Toft DO, et al. The p23 molecular chaperones act at a late step in intracellular receptor action to differentially affect ligand efficacies[J]. *Genes Development*, 2000, 14(4): 422-434
- [20] Echtenkamp FJ, Zelin E, Oxelmark E, et al. Global Functional Map of the p23 Molecular Chaperone Reveals an Extensive Cellular Network[J]. *Molecular Cell*, 2011, 43(2): 229-241
- [21] Zheng M, Cierpicki T, Burdette AJ, et al. Structural Features and Chaperone Activity of the NudC Protein Family [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 409(5): 722-741
- [22] Zhang Ming-hao, Marta Boter, Li Kuo-yu, et al. Structural and functional coupling of Hsp90- and Sgt1-centred multi-protein complexes[J]. *EMBO J*, 2008, 27(20): 2789-2798
- [23] Zhang M, Kadota Y, Prodromou C, et al. Structural basis for assembly of Hsp90-Sgt1-CHORD protein complexes: implications for chaperoning of NLR innate immunity receptors[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(2): 269-281
- [24] Wandinger SK., Richter K., Buchner J. The Hsp90 Chaperone Machinery[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(27): 18473-18477
- [25] Prodromou, C. The 'active life' of HSP90 complexes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1823(3): 614-623
- [26] Macro Retzlaff, Franz Hagn, Lars Mitschke, et al. Asymmetric activation of the HSP90 dimer by its co-chaperone Aha1 [J]. *Mol. Cell*, 2010, 37(3): 344-354
- [27] Miyata Y. Protein kinase CK2 in health and disease: CK2: the kinase controlling the HSP90 chaperone machinery [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(11-12): 1840-1849
- [28] Li J, Richter K, Reinstein J, et al. Integration of the accelerator Aha1 in the Hsp90 co-chaperone cycle [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2013, 20(3): 326-331
- [29] Eckert K., Saliou JM, Monlezun L, et al. The Pih1-Tah1 cochaperone complex inhibits Hsp90 molecular chaperone ATPase activity[J]. *Biol Chem*, 2010, 285(41): 31304-31312
- [30] Kundrat L, Regan L. Balance between folding and degradation for Hsp90-dependent client proteins: a key role for CHIP[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(35): 7428-7438
- [31] Chadli A, Graham JD, Abel MG, et al. GCUNC-45 Is a Novel Regulator for the Progesterone Receptor/hsp90 Chaperoning Pathway [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(5): 1722-1730

(上接第 4050 页)

- [7] 许臻, 李冬梅, 姚亚玲, 等. 硫脲修饰法制备高发光性能 CdTe 量子点[J]. *物理化学学报*, 2009, 06: 1201-1206
- Xu Zhen, Li Dong-mei, Yao Ya-ling, et al. Thiourea modified preparation of luminescent properties of CdTe quantum dots [J]. *Chinese Journal of Chemical Physics*, 2009, 06: 1201-1206
- [8] 严明. 碲化镉量子点对血管内皮细胞的毒性及相关机制研究[D]. 浙江大学, 2011
- Yan Ming. Study on vascular endothelial cell toxicity and mechanism of CdTe quantum dots[D]. Zhejiang University, 2011
- [9] 杨阳, 刘宝瑞, 钱晓萍. Alamar Blue 法用于体外培养细胞活性检测的方法研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2006, 01: 6-8
- Yang Yang, Liu Bao-rui, Qian Xiao-ping. Research methods for detecting cell activity in vitro of Alamar Blue method[J]. *Modern medical journal*, 2006, 01: 6-8
- [10] 刘锡娟, 丁慧荣, 张宏. 用 DAPI 和 Hoechst33342 染色法检测 DNA 的流式细胞方法探讨 [J]. *北京大学学报 (医学版)*, 2010, 04: 480-484
- Liu Xi-juan, Ding Hui-rong, Zhang Hong. Discussion on the method for flow cytometry staining was used to detect DNA DAPI and Hoechst33342 [J]. *Journal of Peking University (Medical Sciences)*, 2010, 04: 480-484
- [11] 陈大明, 金小海, 罗志福. 放射性 Annexin V 活体检测细胞凋亡的研究进展[J]. *原子能科学技术*, 2004, 38(1): 35-42
- Chen Da-ming, Jin Xiao-hai, Luo Zhi-fu. Research progress of apoptosis detection of radioactive Annexin V in vivo [J]. *Atomic Energy Science and technology*, 2004, 38(1): 35-42
- [12] 朱霖, 刘钰沈, 锐何. Annexin V 在核医学细胞凋亡显像中的应用 [J]. *中华核医学杂志*, 2004, 24(6): 379-381
- Zhu Lin, Liu Meng-shen, Rui He. Annexin V application in nuclear medicine imaging of apoptosis [J]. *Chinese Journal of nuclear medicine*, 2004, 24(6): 379-381
- [13] 祁本忠, 陈大明, 杨红伟. 细胞凋亡显像剂 99Tcm-HYNIC-Annexin V 的制备及其生物评价[J]. *同位素*, 2006, 19(3): 140-145
- Qi Ben-zhong, Chen Da-ming, Yang Hong-wei. biological evaluation of the preparation of cell apoptosis imaging agent 99Tcm-HYNIC-Annexin V[J]. *Isotope*, 2006, 19(3): 140-145
- [14] 刘闯碧. 用 Excel 做 t 检验与 F 检验 [J]. *海峡预防医学杂志*, 2002, 05: 67-68
- Liu Min-bi. T test and F test by Excel [J]. *Journal of Preventive Medicine*, 2002, 05: 67-68
- [15] 张云娇. 特异性表面结合肽调控稀土纳米材料自噬和毒性的研究 [D]. 中国科学技术大学, 2012
- Zhang Yun-jiao. Study on peptide regulation of rare earth nanomaterials autophagy and toxicity of combined with specific surface[D]. University of Science and Technology of China, 2012
- [16] 徐进. 乙酸铅诱导 PC 12 细胞凋亡的信号途径研究 [D]. 浙江大学医学院, 2008
- Xu Jin. Study on the signal pathway of lead acetate induced apoptosis of PC 12 cell[D]. Medical college of Zhejiang University, 2008
- [17] 汤睿, 朱正纲. 凋亡途径与肿瘤治疗 [J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(20): 2469-2472
- Tang Rui, Zhu Zheng-gang. Theway of apoptosis and tumor treatment [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 13(20): 2469-2472
- [18] 李娜, 高俊岩, 刘敏. 细胞凋亡和肿瘤的关系研究进展 [J]. *当代医学*, 2009(171): 13-14
- Li Na, Gao Jun-yan, Liu Min. the research progress of the relationship between cell apoptosis and tumor [J]. *Contemporary Medicine*, 2009 (171): 13-14
- [19] Evan.G, Littlewood.T. A matter of life and cell death [J]. *Science*, 1998, 28: 1317-1322
- [20] R.Kumar, P.E.Herbert, A.N.Warrens. An introduction to death receptors in apoptosis [D]. *International Journal of Surgery*, 2005 (3): 268-277