



**Derleme (Review)**

Cilt 1 - Sayı 3: 89-93 / Temmuz 2018

(Volume 1 - Issue 3: 89-93 / July 2018)

## ISI ŞOK PROTEİNLERİ VE İN VİTRO EMBRİYO

Leyla BENER<sup>1\*</sup>, Rabia YAŞAR<sup>1</sup>, Mehmet KURAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 55139 Kurupelit, Samsun, Türkiye

**Gönderi:** 23 Mart 2018; **Yayınlanma:** 01 Temmuz 2018  
**(Submission:** March 23, 2017; **Published:** July 01, 2018)

### Özet

Uzun yıllardır çeşitli şekillerde in vitro embriyo üretimi yapılmaktadır. Bu alanda önemli bir mesafe alınmasına rağmen istenilen seviyede in vitro embriyo üretiminin gerçekleştirilememesinin nedeni in vitro kültür ortamlarının da in vivo şartların tam olarak taklit edilememesidir. İn vitro kültür ortamlarında bir takım biyolojik, çevresel bileşen ve ortam sıcaklığında embriyonun strese maruz kalıp tepki olarak stres proteinleri üretmektedir. Stres proteinleri, organizmanın maruz kaldığı kültür medyum bileşenleri, serum (FCS, ECS), UV ışınları, toksin, arsenik, pH değişimi, iskemia, oksidatif fosforilasyon, sıcak-soğuk ve enfeksiyon durumunda yanıt olarak üretimi artan ve büyüklükleri 100-8 kDA arasında değişen proteinlerdir. Bu proteinlerden HSP70, yüksek oranda korunmuş olan kompakt amino terminal bölgesi ve zayıf ATPaz aktivitesi gibi iki büyük etki alanına sahiptir ve ısı şok faktörlerin (HSF) aktivitesini düzenler. İn vitro kültürde embriyo gelişimi çevresel streslerden etkilenmekte ve embriyo gelişim sürecinde HSP70'in apoptozis de rol aldığına ilişkin deliller bulunmaktadır. Kültür ortamında serum varlığının embriyo implantasyon oranını düşürebileceği düşünülmektedir. Bu derlemede, in vitro oosit olgunlaştırması ve embriyo üretiminde strese bağlı olarak üretilen ısı şok proteinleri ve bunların çeşitleri açıklanmaya çalışılmıştır. Ayrıca bu proteinlerin in vitro embriyo üretim etkinliğine olan muhtemel etkileri de tartışılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Embriyo, Kültür medyumları, Isı şok proteinleri, Apoptozis

### Heat Shock Proteins and In Vitro Embryo

**Abstract:** For a long period of time significant progress attained in in vitro embryo production. Despite desired levels has not been reached the main reason are inability to imitate in vivo conditions of in vitro culture medium precisely and embryo be exposed to stress factors such as environmental conditions, temperature and biological components as a reaction produce stress proteins. Stress proteins which are increased in the organism during culture medium components, serums (FCS, ECS), UV rays, toxin, arsenic, pH, ischemia, oxidative phosphorylation, cold and hot conditions and during infections and vary in size between 100 to 8 kDA. HSP70 has two main domains, compact amino terminal site and low ATPase activity which been highly conserved and it regulate heat shock activity. During in vitro embryo production, the effect of environmental stress and embryo development processes in relation with the roll of HSP70 is very important. Presence of serum in the culture medium thought that it decreased the embryo development rate. In this review, we attempted to explain heat shock proteins and their varieties produced in vitro by

oocyte maturation and embryo production. Furthermore, the possible effects of these proteins on in vitro embryo production activity have been discussed.

**Keywords:** Embryo, Culture medium, Heat shock, Proteins, Apoptosis

\*Corresponding author: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 55139 Kurupelit, Samsun, Türkiye

Email: leyla.bener022@gmail.com (L. BENER)

## 1. Giriş

İlk olarak 1962 de (*Drosophila*) sirke sineğinin tükürük bezlerinde tespit edilmiştir (Aufrecht, 2005). Isı şok proteinleri (HSP) organizmayı çevresel stresten koruyan ve stres anında organizmalarda yüksek oranda sentezlendiği, ancak yapılan çalışmalarda memeli embriyo gelişiminin erken dönemlerinde ve fertilizasyon üzerine önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Matwee ve ark., 2000). Isı şok proteinlerin hücrede; ısı ile birlikte Uv ışınları, aşırı açlığa maruz kalma, inflamasyon, enfeksiyon, toksin, etanol, arsenik, pH değişimi, iskemia, enerji eksikliği, oksidatif fosforilasyon, iz elementlerin eksikliği ve dehidratasyon durumunda artışı görülmektedir (Öztürk ve ark., 2009). Isı şok proteinleri molekül ağırlıklarına ve hücresel streste protein yıkımına veya onarımına izin veren ve proteinin yıkımını önleyen moleküler şaperon olarak protein katlanmasını ve birleşimini sağlar (Welch, 1992). HSP'ler hücrede proteinin korunması, (Dobson ve Ellis, 1998) proteinin katlanmasında ve şaperon (Beckmann ve ark., 1990) ve protein yıkımının onarılması (Chiang ve ark., 1989) gibi sitoprotektan fonksiyonları bulunmaktadır.

HSP'ler prokaryotlarda, post tranlasyonel katlanma meydana gelirken, ökaryotlarda translasyon esnasında oluşur (Macario ve De macario, 2005). Böylece proteinler sentez aşamasında katlanma hataları sonucu hücrede çökerek devre dışı kalmaya açık hale gelirler. Moleküler şaperon özelliği bu durumda devreye girer ve yanlış katlanmış olan proteinlerin çökmesini engelleyerek katlanma hatalarını düzenlemede rol almaktadır (Öztürk ve ark., 2009). Moleküler şaperon özelliğinden proteinlerin katlanma hataları ısı artışı ile artar. Bu moleküllerin bir araya gelmesi ile bu proteinlere "moleküler şaperonin" denilmektedir (Möbius ve ark., 1997). Bunlar genelde, 6-9 proteinden oluşan ve ağırlıkları 400- 1000 kDA arasında değişen proteinlerdir (Macario ve De macario, 2005).

## 2. Isı Şok Proteinlerin Görevleri

Stres proteinleri transkripsiyona neden olurlar, (mRNA'nın ürününün DNA'da oluşması) ve translasyon (mRNA'nın proteine dönüşümü) mekanizmasında aktive olur (Walsh ve ark., 1997). HSP'ler hücre içerisinde peptidleri çevreleyerek sınırlandırır ve bu peptidler HSP yardımı ile hücre içerisine alınır ve bu proteinler moleküler şaperon özelliği gösterir ve hücrede protein taşınmasında ve sentezinde görev alırlar (Schlesinger, 1990).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hücre üzerinde koruma etkilerinden apoptosis de rol aldığı düşünülmüştür (Samali ve Orrenius, 1998). Ancak mekanizması henüz belirlenmemiştir. HSP'ler hücrede sitoplazmada bulunur ve hücre içi proseslerde görev alır. Proteinin katlanmasında, protein yıkımının engellenmesinde ve ortamdaki ihtiyaca göre proteinin oluşmasına yardımcı olarak hücre içi dengenin korunmasında görev alırlar (Ciocca ve Calderwood, 2005; Multhoff, 2006). Bu fonksiyonundan dolayı moleküler şaperon olarak adlandırılır (Whitley ve ark., 1999).

Bazı bakteriyel HSP'ler özellikle HSP60 ve HSP70 protein ailesi hipersensitivitenin geciktirilmesinde ve otoimmün sisteme cevap verilmesinde sorumlu olduğu belirlenmiştir (Dobson ve Ellis, 1998). HSP'ler aynı zamanda hücre içinde fagositik olan düşman çevrelere karşı koruyucu görevi olduğu düşünülmektedir (Fields ve ark., 1986). Hayvanlar, bitkiler ve bakteriler benzer ısı şok protein ailesine sahiptirler. Ekstrem koşullarda; pH değişimi, aşırı yüksek sıcaklık gibi durumlarda proteinlerin yapılarını korumaları oldukça zordur. Proteinlerin katlanmasında açılmalar meydana gelebilir ve bunun sonucunda proteinler kümelenme gösterebilir, fonksiyonlarını kaybedebilirler. HSP'ler bu tür olumsuzlukların ortadan kaldırılmasına yardımcı olurlar (Aşkar ve ark., 2007). HSP'ler hidrojen bağları, güçlü hidrofobik etkileşimleri ve çift kutuplu heliks stabilitesinden dolayı denatüre olmazlar (Aşkar ve ark., 2007). Organizmanın yaşaması için önemli olan HSP ailesi ve amino asit sekansları evrimleşme süreci boyunca korunmuştur. Çekirdekte ve kromatinin korunmasında hücre yapısı ile ilişkilendirilen ısı şok proteinlerinin önemli lokasyonlarından dolayı strese karşı hücreyi koruduğu düşünülmüştür (Velazquez ve Lindquist, 1984).

Gastrulasyon sırasında, nöroektoderm tabakasında, özellikle ön, orta ve arka beyindeki bölgelerde HSF1 (heat shock factor) ve HSF2'nin daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Isı şoku yanıtı ve HSP'lerin 90, 70, 47 ve 27 ailelerinin aktivasyonu, HSF1 ve HSF2 ile ilişkilendirilmiştir. HSF1 tüm erken embriyonik hücrelerde mevcut gibi görülmüş, nöroektoderm farklılaşması sırasında HSF1 ve HSF 32'nin aktivasyonu, HSP90, HSP73, HSP71, HSP47 ve HSP27'nin çoğunun yüksek yapısal ifadenmesiyle korelasyona girer, bu da korelasyondaki hücre döngüsü tarafından sıkı bir şekilde regüle edilir (Walsh ve ark., 1997). HSP90, HSP70 ve HSP60 ile birleşerek östrojenin devamını ve kompleks reseptörün devamını sağlar. HSP90 hedeflenen proteinin sentezi sırasında inhibisyonu ve düzenlenmesinde rol

alır. HSP70 ve HSP90 tüm dokularda bulunur ancak bazı küçük stres proteinleri de vasküler sistem gibi önemli görevler yapar (Whitley ve ark., 1999).

İn vitro kültür sistemlerinde hücrelerin bulunduğu ortamdaki stres faktörlerine verdiği tepkiler çeşitli olmaktadır. Kültür ortamlarına pH' yı ayarlamak için eklenen kalsiyum iyonları veya iyonik deterjanlar hücrelerin strese girmesine neden olabilmektedir. Isıya bağlı stres proteinlerinin türler arasında ki varlığı farklılık gösterebilirler. Örneğin drosophila'da(sirke sineği) 30°C de, kuşlarda ise 43- 45 °C de ısı şok proteininin varlığı tespit edilmiştir. Drosophila da ısı şok geninin olmamasından dolayı RNA polimeraz stres durumunda DNA'nın hasar görmesini engeller (Rougvie ve Lis, 1988). Yapılan çalışmalar sonucunda ısı şok genlerinin organizmalar arasında yüksek oranda korunduğu belirlenmiştir. Örneğin HSP70 insan ile E.Coli arasında % 50 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bazı gen bölgelerinin % 96 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Isı şok proteinleri hücrenin spesifik kompartmanında yerleşmişlerdir. Bu kompartmanlar, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulumdur. Aynı zaman da sentezlendikleri yere göre farklılık gösterirler. HSP70 hücrede porlardan taşınırken ya tamamen katlanmamış ya da kısmen katlanmış olması gerekmektedir. Bundan dolayı membran porları boyunca lokalize olabilirler (Schlesinger, 1990). HSP70'in protein bağlama ve

protein kompleksinin ayrışmasında rol alabileceği düşünülmüştür. Endoplazmik retikulum üzerinde protein bağlama ve anormal oligomerik proteinin ve dörtgen ya da dört köşeli yapısının korunması rol alır (Gething ve Sambrook, 1990). HSP70'in iki majör etki alanı bulunmaktadır. Bunlar yüksek oranda korunmuş olan kompakt amino terminal ATP bağlama bölgesi, zayıf ATPaz aktivitesi ve kalmodülün bağlama bölgesi proteaz hassasiyeti ile ilişkilendirilmiştir. Katlanmamış proteinlerde HSP70 ve HSP60 polipeptidlerin katlanmasında rol alırlar. Bundan dolayı moleküler şaperonin olarak adlandırılırlar. Ökaryotlar da HSP60 mitokondri ve kloroplast gibi sitoplazmik organellerde bulunur. Bunlar hegzamerik enzim kompleksi için gereklidir. Isı şok proteinlerinin moleküler büyüklükleri, hücrede bulunma yeri ve hücredeki görevleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

### 2.1. Isı Şok Protein 100 (HSP 100)

HSP100, golgi kompleksinde lokalize olmuş ve ısı şok durumunda nükleusa transloke olmaktadır (Welch ve ark., 1983). HSP100 moleküler şaperon özelliği göstererek protein kümelerinin ayrılması ve yeniden katlanmasında rol almaktadır. Ayrıca bitkilerde yüksek ısı toleransında çok önemli olup ancak çimlenme ve büyüme esnasında gerekli değildir (Al-Whaibi, 2011). HSP100 aktin bağlayıcı proteinler kategorisinde çapraz aktin bağlayıcı yeteneğine sahiptir.

**Tablo 1.** Isı şok proteinlerin büyüklüğü, hücredeki yeri ve görevi

İsim	Moleküler büyüklüğü (KD)	Hücrede bulunma yeri	Hücredeki görevleri
Ubiquitin	8	Sitozol/Nükleus	Denatüre olan proteinin uzaklaştırılması
HSP10	10	Mitokondri	HSP60 için kofaktör görevi görür.
HSP20-40	20-40	Sitozol/Nükleus	Bazısı hücresel hücre iskeleti ve hücre göçünden sorumlu, bazısı da damar sisteminde görev almaktadır.
HSP56	56	Sitozol	Steroid hormon reseptör kompleksini bağlar ve stabilize eder.
HSP60	60	Mitokondri	Moleküler şaperon
HSP70	70	Sitozol/Nükleus	Moleküler şaperon ve termotolerans özellik gösterir.
HSP90	90	Sitozol/Nükleus	Moleküler şaperonun ifade edilmesinde
HSP100	100	Golgi kompleksi	Moleküler şaperon özelliği göstererek protein kümelerinin ayrılması

KD = kilo dalton, HSP = ısı şok proteini

### 2.2. Isı Şok Protein 90 (HSP 90)

Moleküler şaperon olup, sinyal yollarında ve tümör yayılmasının önlenmesinde, proteinlerin katlanmasında görev aldığı düşünülmekte ve hücredeki en fazla fonksiyonlu stres proteinidir (Zhang ve ark., 2009). HSP90 daha çok sitoplazmada nükleus çevresinde ve katlı membranında lokalize olduğu belirlenmiştir. Endoplazmik retikulum üzerinde en çok bulunan proteindir. Memeli hücrelerinde en fazla bulunan ısı şok protein ailesidir (Whitley ve ark., 1999).

### 2.3. Isı Şok Protein70 (HSP 70)

HSP70 ailesi, en çok çalışılan stres protein grubudur. Hücre içi görevi bilinmemekle birlikte hücrenin termotoleransının gelişmesi ile ilişkilendirilmiştir (Whitley ve ark., 1999). İnsan HSP70 ve e-coli de amino asit zincirinin % 50'sinin benzer olduğu ve yüksek ısıda denatüre olduğu belirlenmiştir (Schlesinger, 1990). ATP' ye bağlanarak ATPaz aktivitesi gösterir. HSP70 ısı şok faktörlerinin aktivitesini düzenler ve bu proteinlerin transkripsiyon kontrolünü sağlarlar. Sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum(ER) ve mitokondride protein taşınmasına katılır (Aşkar ve ark., 2007). DNA'da

5' tarafında bulunan 4 sekans motifi insan HSP70 geni, serum faktörü, ağır metaller ve adeno virüs proteini olan E1A proteininden sorumludur (Schlesinger, 1990).

### 2.4. Isı Şok Protein 60 (HSP 60)

HSP60 apoptozinin (toplu hücre ölümü) gerçekleşmesinde kilit rol oynayabilir. İnsan arteriokloritik lezyonlarda yüksek oranda bulunmuştur (Whitley ve ark., 1999). HSP60, ökaryot hücrelerin mitokondri ve kloroplastlarında yer alır (Matz ve ark., 2007). Normal şartlarda HSP60 enzimlerin bir araya gelmesinde ve bağlanması iş görür ve enerji metabolizması ile alakalıdır. Normal çevre şartları değiştiği zaman, HSP60'ın sentezi yükselir ve biyolojik aktivitenin devam edebilmesi için hasar gören proteinlerin yıkımlarını engellemek suretiyle hasarı onarırlar (Choi ve ark., 2008).

### 2.5. Küçük Isı Şok Proteinler (HSP 60>)

Bazı küçük ısı şok proteinler vasküler sistemde önemli role sahiptir. Miyokardiyal hücrede bol bulunan protein ailesi HSP32'dir. HSP25/27 hücre iskeletinde aktin polimerizasyonunu etkiler ve hücre göçünde yer alabilir. HSP20 düz vasküler kasta bulunur. Ubiquitin 8 kDA proteini hedeflenen ve stres esnasında denatüre olan diğer proteinlerin uzaklaştırılmasında görev alır (Whitley ve ark., 1999). Isı şok proteinleri gelişimsel olarak blastula safhasında ve ısı şokuna duyarlı olan nöral tüp kapanışı sırasında yüksek seviyede yapısal olarak ifade edilir. Gastrulasyon sürecinde HSP47/27'nin başlangıçtaki kolajen ve aktin moleküllerine bağlandığı ve katlanma gösterdiği belirlenmiştir (Walsh ve ark., 1997). Oksidatif stres anında HSP 27'nin hücre içi ekspresyonu yükselir ve fosforile olur. Parazit, ısı şok proteinlerinin konak immun mekanizmasını uyararak, TNF- $\alpha$  salınımını ve bundan dolayı da HSP27 ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir (Carcy ve ark., 1991; Ferns ve ark., 2006). HSP27 ekspresyonu artışı hücre içi glutasyon miktarını artırıp, demir içeriğini azaltarak ve hidroksil radikallerinin ve okside proteinlerin oluşumunu azaltarak, antioksidan gibi görev yapar (Jaattela, 1999). HSP40 en çok balıklarda, midye ve salyangoz gibi sucul organizmalarda tespit edilmiştir (Lyons ve ark., 2003).

### 3. Isı Şok Proteinin İn Vitro Embriyo Gelişimi İle İlişkisi

Embriyonun bölünme sürecinde sıcaklığa duyarlılığı artmaktadır. Fertilizasyon ve embriyo gelişimi esnasında embriyonun maruz kaldığı stresten dolayı HSP70'in varlığı tespit edilmiştir. Pulur ve arkadaşlarının 2017 de yaptığı çalışmada HSP70'in sağlıklı normal bireylerde serum ve plazmada bulunabildiği ve hücre yüzeyinde ifade edilebildiği bildirmişlerdir. İntraselüler HSP70'in anti enflamatuvar etkileri olduğu halde, ekstraselüler HSP70 ve enflamatuvar öncesi immun yanıt sağlamak için, hücresel stres ya da hasar gibi fizyolojik olmayan bir koşulun tehlike sinyalinin oluşturmak amacı ile intraselüler stres sinyal molekülü gibi davranabildiği bildirilmiştir (Pulur ve ark., 2017).

İn vitro fertilizasyon sonrasında embriyonik gelişim ile ilgili parametrelere bakıldığında, in vitro embriyo kültürüne antioksidan ilavesinin embriyonik gelişimi desteklediği bildirilmiştir. Ancak düşük inkübasyon sıcaklığında olgunlaştırılan oositlerden elde edilen embriyoların in vitro embriyo kültürüne antioksidan ilavesinin incelenen embriyonik gelişim parametrelerinde bir iyileştirme sağlamadığı, in vitro embriyo kültürüne ilave edilen antioksidanların daha çok geleneksel inkübasyon sıcaklığında olgunlaştırılan oositlerden elde edilen embriyoların embriyonik gelişimini desteklediği gözlemlenmiştir (Şen ve Kuran, 2018).

Matwee ve arkadaşlarının 2001 de yaptığı bir çalışmada in vitro embriyo gelişimi üzerine HSP70'in etkisini belirlemek amacıyla kültür medyumuna antibadi HSP70 eklemesiyle ilgili yaptıkları çalışmada sıcaklığı aşamalı bir şekilde uygulayıp kısa süreli olsa kültür ortamında antibadinin varlığı embriyonun gelişimi üzerine olumsuz etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Antibadinin hücre zarına proteini nötralize etmiş olabileceği ve in vitro kültürde yüksek sıcaklığa maruz kalan blastosistlerde apoptozis oranının düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Ortama eklenen antibadinin miktarı arttıkça oosit, sperm penetrasyonun azaldığı gözlemlenmiştir (Matwee ve ark., 2001).

Stres adaptasyonunda rolü olan HSP70'in etkisini belirlemek amacıyla kültür ortamına serum (FCS) eklenmesinin strese yanıtın da daha duyarlı olabileceği bildirilmiştir (Wrenzycki ve ark., 1999). Sığır embriyolarında serbest oksijen radikalleri (SOR) gibi çevresel streslerin ve ortam sıcaklığının artması gen ekspresyonunda ve gen transkripsiyon aktivasyonunu etkilediği bildirilmiştir (Edwards ve Hansen, 1997) (Lannett Edwards ve Hansen, 1996). Kültür ortamına serum eklenmesinin implantasyon oranını düşürebileceğini bildirmişlerdir (Kaneda ve ark., 2004).

### 4. Sonuç

Isı şok proteinleri organizmayı çevresel ve biyolojik kökenli streslerden koruyan ve stres anında bulunduğu hücrede miktarı artan proteinlerdir. Özellikle in vitro olgunlaştırma ve embriyo üretimi sürecinde hücrenin stres faktörlerini minimize edilerek stres proteinlerinin salgılanması azaltılabilir.

Isı şok proteinleri, hücrenin stres varlığında oluşturdukları kendini koruma mekanizmasıdır. Yani herhangi bir hücresel yapısına ya da genetik materyale (DNA, RNA) zarar oluşturmaması için ürettikleri proteinlerdir. Bu nedenle bu proteinlerin yüksek miktardaki üretimi hücrenin stres altında olduğunun en büyük göstergesidir. İn vitro olgunlaşmada strese maruz kalan oosit stresten korunmak amacıyla metabolizmasını hızlandırarak aşırı miktarda serbest radikal üretimine neden olur (Şen ve Kuran, 2018). Bu durum da in vitro olgunlaşma ve in vitro fertilizasyonu olumsuz etkilemektedir. Bundan dolayı stresin neden olabileceği ve oositin bu durumdan etkilenmesinin sonucunda



HSP70 proteini salgısının artabileceği ve hücrenin zarar görmesini engelleyebileceği düşünülmektedir.

İn vitro oosit olgunlaştırma için kullanılan kültür ortamında yaygın bir şekilde kullanılan hayvansal kökenli bir kaynak olan serum, içeriği bilinmeyen birçok etmeden dolayı oosit üzerinde stres oluşturabilecek bir potansiyele sahiptir. İn vitro olgunlaştırma aşamasında uygulanan farklı sıcaklıkların, serum ilavesinin kültür aşamasında oosit üzerinde stres oluşturabileceği ve bunun sonucunda HSP70'in kültür ortamında olgunlaştırılan oositlerde HSP70 miktarının fazla olabileceği düşünülmektedir.

### Kaynaklar

- Al-Wahaibi MH. 2011. Plant heat-shock proteins: a mini review. *J King Saud Univ Sci*, 23(2): 139-150.
- Aşkar TK, Ergün N, Turunç V. 2007. Isı şok proteinler ve fizyolojik rolleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 13 (1): 109-114.
- Aufricht C. 2005. Heat-shock protein 70: Molecular supertool? *Pediatr Nephrol*, 20(6): 707-713.
- Beckmann RP, Mizzen L, Welch WJ. 1990. Interaction of Hsp 70 with newly synthesized proteins: Implications for protein folding and assembly. *Sci*, 248(4957): 850-854.
- Carcy B, Précigout E, Valentin A, Gorenflot A, Reese R T ve Schrével J. 1991. Heat shock response of *Babesia divergens* and identification of the hsp 70 as an immunodominant early antigen during ox, gerbil and human babesiosis. *Biol Cell*, 72(1-2): 93-102.
- Chiang HL, Plant C, Dice J. 1989. A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Sci*, 246(4928): 382-385.
- Choi YK, Jo PG, Choi CY. 2008. Cadmium affects the expression of heat shock protein 90 and metallothionein mRNA in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Compar Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol*, 147(3): 286-292.
- Cioca DR, Calderwood SK. 2005. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chap*, 10(2): 86-103.
- Dobson CM, Ellis RJ. 1998. Protein folding and misfolding inside and outside the cell. *The EMBO J*, 17(18): 5251-5254.
- Edwards JL, Hansen PJ. 1997. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Molec Reprod Develop*, 46(2): 138-145.
- Ferns G, Shams S, Shafi S. 2006. Heat shock protein 27: its potential role in vascular disease. *Inter J Exper Pathol*, 87(4): 253-274.
- Fields PI, Swanson RV, Haidaris CG, Heffron F. 1986. Mutants of *Salmonella typhimurium* that cannot survive within the macrophage are avirulent. *Proceed National Acad Sci*, 83(14): 5189-5193.
- Jaattela M. 1999. Heat shock proteins as cellular lifeguards. *Annals Med*, 31(4): 261-271.
- Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto N, Li E, Sasaki H. 2004. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature*, 429(6994): 900.
- Lannett Edwards J, Hansen PJ. 1996. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biol Reprod*, 55(2): 340-346.
- Lyons C, Dowling V, Tedengren M, Gardeström J, Hartl MG, O'Brien N, van Pelt FN, O'Halloran J, Sheehan D. 2003. Variability of heat shock proteins and glutathione S-transferase in gill and digestive gland of blue mussel, *Mytilus edulis*. *Mar Environ Res*, 56(5): 585-597.
- Macario AJ, De macario EC. 2005. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *N Engl J Med*, 353(14): 1489-1501
- Matwee C, Betts DH, King WA. 2000. Apoptosis in the early bovine embryo. *Zygote*, 8(1): 57-68.
- Matwee C, Kamaruddin M, Betts D H, Basrur P, King WA. 2001. The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. *Mol Hum Reprod*, 7(9): 829-837.
- Matz C J, Treble RG, Krone P H (2007). Accumulation and elimination of cadmium in larval stage zebrafish following acute exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*, 66(1): 44-48.
- Möbius J, Groos S, Meinhardt A, Seitz J. 1997. Differential distribution of the mitochondrial heat-shock protein 60 in rat gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res*, 287(2): 343-350.
- Multhoff G. 2006. *Molecular Chaperones in Health and Disease*. Springer, 279-304.
- Öztürk E, Kahveci N, Özlük K, Yılmazlar T. 2009. Isı şok proteinleri. *Turk J Sur*, 25(4): 131-136.
- Pulur A, Karaca İ, Yıldırım Karaca S. 2017. Isı şok protein 70 (Heat Shock Protein 70) düzeylerinin normal ve preeklampatik gebelerdeki seviyesi. *Tepecik Eğitim Hast Derg*, 27(2): 88-92.
- Rougvie AE, Lis JT. 1988. The RNA polymerase II molecule at the 5' end of the uninduced hsp70 gene of *D. melanogaster* is transcriptionally engaged. *Cell*, 54(6): 795-804.
- Samali A, Orrenius S. 1998. Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress Chaperones*, 3(4): 228-236.
- Schlesinger MJ. 1990. Heat shock proteins. *J Biol Chem*, 265(21): 12111-12114.
- Şen U, Kuran M. 2018. Low incubation temperature successfully supports the in vitro bovine oocyte maturation and subsequent development of embryos. *Asian-Australas J Anim Sci*, 31(6): 827-834.
- Velazquez JM, Lindquist S. 1984. HSP 70: nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell*, 36(3): 655-662.
- Walsh D, Li Z, Wu Y, Nagata K. 1997. Heat shock and the role of the HSPs during neural plate induction in early mammalian CNS and brain development. *Cell Mol Life Sci*, 53(2): 198-211.
- Welch WJ. 1992. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev*, 72(4): 1063-1081.
- Welch W J, Garrels J I, Thomas G, Lin J, Feramisco JR. 1983. Biochemical characterization of the mammalian stress proteins and identification of two stress proteins as glucose- and Ca<sup>2+</sup>-ionophore-regulated proteins. *J Biol Chem*, 258(11): 7102-7111.
- Whitley D, Goldberg SP, Jordan WD. 1999. Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones. *J Vascul Sur*, 29(4): 748-751.
- Wrenzycki C, Herrmann D, Carnwath J, Niemann H. 1999. Alterations in the relative abundance of gene transcripts in preimplantation bovine embryos cultured in medium supplemented with either serum or PVA. *Molec Reprod Develop*, 53(1): 8-18.
- Zhang XY, Zhang MZ, Zheng CJ, Liu J, Hu HJ. 2009. Identification of two hsp90 genes from the marine crab, *Portunus trituberculatus* and their specific expression profiles under different environmental conditions. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 150(4): 465-473.