

**Rola białek z domeną J w regulacji dezagregacji agregatów białkowych przez system Hsp70****mgr Hubert Wyszkowski**

Homeostaza białek komórkowych jest nieustannie zagrożona wystąpieniem warunków stresowych. Nagłe zmiany w środowisku komórki, mutacje czy błędy podczas translacji mogą prowadzić do zaburzenia struktury natywnej białek. Nagromadzenie źle sfałdowanych białek prowadzi do utworzenia amorficznych struktur nazywanych agregatami białkowymi.

By przeciwdziałać temu procesowi, komórki wytworzyły wiele mechanizmów obrony. Jednym z nich jest aktywność systemu białek opiekuńczych Hsp70-Hsp100, który oddziałuje z agregatami, ostatecznie prowadząc do odzyskania białek w nich uwięzionych i przywrócenie im natywnej konformacji. Głównymi regulatorami aktywności systemu Hsp70 są białka z domeną J (*ang.* J-domain proteins). Ich aktywność polega na rozpoznaniu i związaniu agregatu, a następnie zadokowaniu do agregatu białka Hsp70. Z uwagi na to, że aktywność dezagregacyjna może być promowana przez więcej niż jedno białko J, głównym założeniem mojej pracy było ustalenie funkcjonalnych różnic w aktywności systemu Hsp70 w procesie dezagregacji w zależności od zaangażowanego białka J.

W moich badaniach użyłem modelu drożdżowych, cytozolowych białek opiekuńczych z domeną J, białka klasy A, Ydj1 oraz białka klasy B, Sis1. Używając pomiarów biochemicznych w czasie rzeczywistym, badałem, jak aktywność systemu Hsp70 w procesie dezagregacji zależy od zaangażowanego białka z domeną J. Pokazałem, że Ydj1 jest zdolny do wiązania agregatu, co następnie pozwala na dokowanie białka Hsp70. Z kolei Sis1 wymaga jednoczesnej obecności Hsp70, by oddziaływać z agregatem, ale jego aktywność pozwala na znacznie efektywniejsze dokowanie białek Hsp70 do agregatu niż w przypadku Ydj1. Duża ilość oddziałujących z agregatami cząsteczek Hsp70 może wzmacniać efekt entropowy, prowadząc do globalnego rozluźnienia struktury agregatu, co odsłania nowe potencjalne miejsca wiązania dla białka Hsp70. Ten cykl zdarzeń może ostatecznie prowadzić do pełnej dezagregacji i odzyskania zagregowanych białek, nadając im z powrotem strukturę natywną. Z drugiej strony, z uwagi na możliwość samodzielnego oddziaływania z substratem, Ydj1 może wiązać uwolnione przez Sis1-Ssa1 polipeptydy, przeciwdziałając ich reagregacji. Te komplementarne aktywności w dezagregacji mogą stanowić podstawę efektywnego odzyskiwania białek, utraconych w wyniku agregacji. Jako że u Metazoa, w przeciwieństwie do drożdży, nie występuje dezagregaza z rodziny Hsp100, jest możliwe, że taka dywersyfikacja aktywności systemu Hsp70 może grać główną rolę w procesie dezagregacji u tych organizmów. Używając ludzkich ortologów białka Hsp70 oraz białek J klasy A i B, zaobserwowałem podobne trendy jak dla systemu drożdżowego, w których białko J klasy B, w odróżnieniu od białka klasy A, promuje wydajniejszą dezagregację oraz pozwala na budowanie większego kompleksu białek opiekuńczych na agregacie. To implikuje ewolucyjne znaczenie wzajemnie komplementarnych aktywności systemu Hsp70 zależnych od białek J w dezagregacji i ponownym fałdowaniu białek.