

## 1. Streszczenie

Proteaza Lon należy do rodziny białek AAA+ (*ang. ATPases associated with various cellular activities*). Homologi Lon występują niemal we wszystkich poznanych organizmach żywych. Białka te wykazują zarówno podobieństwo strukturalne jak i funkcjonalne. Proteaza Lon pełni istotną funkcję regulacyjną degradując białka zdenaturowane podczas warunków stresowych, a także jest odpowiedzialna za degradację białek biorących udział w kluczowych procesach metabolicznych w komórce. Ścisła regulacja aktywności proteazy Lon jest niezbędna do zachowania w komórce proteostazy. Białko Lon posiada trzy funkcjonalne domeny: N-kończową, ATPazową oraz peptydazową. Domeny ATPazowa i peptydazowa zostały dokładnie opisane, natomiast N-domena nadal nie jest dobrze poznana. Wykazano, że białko Lon *Escherichia coli* (*EcLon*) może występować w dwóch stanach oligomerycznych: heksameru i podwójnego heksameru (dodekameru). Jak dotąd, nie wiadomo jakie jest znaczenie biologiczne tworzenia przez Lon tych dwóch typów struktur czwartorzędowych, czy, i w jaki sposób N-kończowa domena jest zaangażowana w ten proces oraz jakie jest znaczenie N-końcowej domeny dla aktywności białka Lon.

Celem mojej pracy doktorskiej była próba odpowiedzi na pytanie o znaczenie N-końcowej domeny oraz czwartorzędowej struktury Lon dla aktywności białka Lon *E. coli*. W pierwszym etapie oczyściłam dziką formę białka *EcLon*, mutantu punktowego Lon E240K, opisanego w literaturze jako stabilny dodekamer, a także zaprojektowałam i oczyściłam mutanty białka *EcLon* pozbawione 46, 160, 176 oraz 300 N-końcowych aminokwasów. Przeprowadzone przeze mnie doświadczenia *in vitro* wykazały, że N-domena uczestniczy w tworzeniu i stabilizacji struktury czwartorzędowej Lon. Przy wykorzystaniu metod badawczych *in vivo* pokazałam, że N-domena jest niezbędna do regulacji odpowiedzi komórki na stres UV, a tym samym do jej przeżycia w warunkach stresu. Doświadczenia *in vitro* z wykorzystaniem substratów natywnych oraz substratu niefizjologicznego pozwolił wykazać, że początkowe aminokwasy N-domeny są niezbędne w rozpoznawaniu oraz wiązaniu substratu i jego proteolizie. Udowodniłam także, że N-domena, poprzez jej udział w formowaniu struktury czwartorzędowej proteazy, i oddziaływania w obrębie dodekameru wpływa na aktywność ATPazową białka. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że N-domena Lon jest niezbędna dla wydajnej hydrolizy ATP.