

Szymon Żwirowski

Streszczenie rozprawy doktorskiej w języku polskim: **The mechanism of chaperone-dependent disaggregation of complexes comprising small heat shock proteins and their substrates**

Proces agregacji białek w komórce polega na łączeniu się ze sobą nieprawidłowo sfaldowanych polipeptydów. Powstałe w rezultacie agregaty białkowe to duże, amorficzne twory. Aby przeciwdziałać agregacji oraz przywrócić zagregowanym białkom odpowiednią strukturę, komórki wykształciły mechanizmy obronne. W reaktywacji zagregowanych białek główną rolę pełnią białka opiekuńcze systemów Hsp70 i Hsp100 (*Hsp- ang. Heat shock protein*). Małe białka szoku cieplnego (*ang. small heat shock proteins, sHsps*) to z kolei rodzina białek opiekuńczych przeciwdziałających agregacji: w warunkach stresu cieplnego tworzą kompleksy z rozfaldowanymi, agregującymi polipeptydami, utrzymując je w stanie sprzyjającym późniejszej reaktywacji.

Reaktywacja wchodzących w skład kompleksów sHsp-substrat poprzez białka opiekuńcze systemów Hsp70 i Hsp100 w obecności ATP jest znacznie bardziej wydajna w porównaniu z reaktywacją białek z agregatów powstających bez udziału sHsp. Aby białka Hsp70 i Hsp100 mogły wydobyć nieprawidłowo sfaldowane białko z kompleksu sHsp-substrat oddziaływanie pomiędzy białkiem-substratem a sHsp, które dotąd chroniło je przed agregacją, musi zostać zerwane. Mechanizm, według którego Hsp70 i Hsp100 zrywają oddziaływanie z sHsp i reaktywują substrat nie był dotąd zbadany.

Tematem tej rozprawy doktorskiej jest rola, jaką białka opiekuńcze Hsp70 oraz Hsp100 pełnią w reaktywacji substratów z kompleksów sHsp-substrat. Doświadczenia tu przedstawione ukazują nową, konserwowaną ewolucyjnie funkcję Hsp70, które zajmuje miejsce małych białek szoku cieplnego na powierzchni kompleksu w początkowej fazie reaktywacji. Hsp70 wygrywa konkurencję o wiązanie się do eksponowanych hydrofobowych fragmentów na powierzchni kompleksów, od których sHsp oddysocjowuje, a następnie do których usiłuje związać się na nowo.

Wiązanie Hsp70 pozwala zachować architekturę kompleksu, zapobiega dalszej agregacji, rekrutuje Hsp100 i rozpoczyna wydajną reaktywację substratu.

Eksperymenty zostały przeprowadzone przy użyciu białek opiekuńczych Hsp70, Hsp100 oraz sHsps bakterii *Escherichia coli* oraz Lucyferazy jako białka substratowego. Aby wykazać, że przedstawiony tu fenomen nie jest specyficzny tylko dla jednego substratu, najbardziej istotne eksperymenty powtórzono używając Dehydrogenazy Jabłczanowej (MDH) lub Białka Zielonej Fluorescencji (GFP). Aby wykazać, że opisany mechanizm jest uniwersalny dla innych organizmów, użyto również kompletnego zestawu białek opiekuńczych jednokomórkowego eukarionta *Saccharomyces cerevisiae*. Przeprowadzono również badania *in vivo* potwierdzające mechanizm zaproponowany w wyniku eksperymentów *in vitro*.

Niniejsza rozprawa doktorska opisuje mechanizm prowadzący do wydajnej reaktywacji białek z kompleksów sHsp-substrat, ukazuje niepoznaną dotąd aktywność Hsp70, oraz przedstawia informacje o strukturze i organizacji kompleksów sHsps-substrat. Powyższe odkrycia poszerzają wiedzę na temat małych białek szoku cieplnego oraz ukazują je w kontekście współpracy z Hsp70 oraz Hsp100.