

Krzysztof Gumowski

Specyficzność substratowa białka opiekuńczego Hsp104 z drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

Białka w komórce pełnią kluczową rolę wypełniając różnorodne funkcje, jak: sygnałowanie komórkowe, kataliza, transport, ruch, czy funkcje regulatorowe. Białko po syntezie łańcucha polipeptydowego w formie liniowej, aby pełnić swoje funkcje musi sfałdować się w odpowiednią strukturę przestrzenną, zwaną strukturą natywną. Skomplikowana sieć białek opiekuńczych wspomaga fałdowanie polipeptydów wykorzystując w tym procesie energię z hydrolizy ATP. Wzrost temperatury, wolne rodniki oraz inne czynniki stresowe mogą zaburzać proces fałdowania białek oraz prowadzić do rozfałdowania tych, które osiągnęły już natywną strukturę. Takie procesy powodują zaburzenie funkcji białek i mogą prowadzić do ich agregacji. Uważa się, że akumulacja agregatów białkowych jest również procesem naturalnym związanym ze starzeniem się komórek. W komórkach drożdżowych współpraca dwóch rodzin białek opiekuńczych Hsp70 i Hsp100 odgrywa kluczową rolę w ochronie komórki przed skutkami stresu komórkowego prowadzącego do rozfałdowania i agregacji białek. Białko Ssa1 we współpracy

z białkami z rodziny Hsp40 rozpoznaje agregaty i rekrutuje białko Hsp104, które jest odpowiedzialne za proces dezagregacji polegający na oddzieleniu od agregatów pojedynczych rozfałdowanych polipeptydów. Następnie te polipeptydy są ponownie fałdowane lub kierowane na jedną ze ścieżek degradacji. System białek Hsp70/Hsp100 oddziałuje również na inny rodzaj agregatów, jakim są amyloidy prionowe i dzięki temu determinuje dziedziczenie prionów w populacji drożdży. Szereg danych literaturowych sugeruje, że białko Hsp104 posiada funkcje niezwiązane z metabolizmem agregatów termicznie zdenaturowanych białek oraz agregatów prionowych. W ramach przeprowadzonych prac badawczych zidentyfikowałem substraty białka Hsp104 w warunkach fizjologicznych. W tym celu zastosowałem metodę analizy proteomu opartą o spektrometrię mas. Strategia badawcza zakładała przeprogramowanie aktywności Hsp104 z dezagregacyjnej na proteolityczną, a następnie identyfikację białek, których poziom w lizacie komórkowym uległ obniżeniu. Dzięki zastosowaniu opisanej metody odkryłem, że substratami białka Hsp104 w warunkach fizjologicznych są białka zaangażowane w procesy przemian energetycznych. Analiza funkcjonalna wykazała, że substraty są zaangażowane w takie procesy jak cykl kwasów trójkarboksylowych, przemiany glikogenu, glikolizę oraz syntezę ATP. Białka te ze względu na swoje funkcje są narażone na wysokie stężenie wolnych rodników, co może wywoływać ich karbonylację i agregację. Proces akumulacji karbonylowanych białek postępuje wraz ze starzeniem się komórek drożdżowych. Hsp104 wiąże się z agregatami karbonylowanych białek i może uczestniczyć w ich transporcie do mitochondriów, gdzie ulegają one degradacji. Uzyskane wyniki sugerują, że białko Hsp104 jest jednym z czynników chroniących komórkę przed akumulacją karbonylowanych białek w trakcie procesu starzenia się komórek drożdżowych.