

Maciej Baranowski - Streszczenie

Tematem mojej rozprawy są białka opiekuńcze z rodziny Hsp40. Przedstawiciele białek z tej dużej, zróżnicowanej rodziny są niezbędni do funkcjonowania praktycznie każdej komórki. Białka Hsp40 są pierwszą linią obrony komórki przed stresem proteostatycznym: rozpoznają, wiążą i chronią niesfałdowane polipeptydy. Substrat związany przez białko Hsp40 jest przekazywany do białek Hsp70, które albo ten substrat fałdują samodzielnie, albo przygotowują do fałdowania lub proteolizy dla innych, bardziej wyspecjalizowanych białek opiekuńczych. Pomimo tego, że białka z rodziny Hsp40 są pierwszym, kluczowym elementem systemu białek opiekuńczych, na temat mechanizmu ich działania wciąż niewiele wiadomo. W szczególności nie jest do końca jasne jak białka Hsp40 rozpoznają i wiążą substraty.

Rozpoznawanie i wiązanie substratu przez białka Hsp40 zachodzi na tak zwanej C-Terminalnej Domenie 1 (CTD1). Jest to mała (~80 reszt aminokwasowych) domena zbudowana z dwóch β -kardek, często porównywana z domenami immunoglobulinowymi. Zauważyłem, że architektura CTD1 jest dość nietypowa, wygląda jak fuzja dwóch motywów strukturalnych: klucza greckiego i pętli psi. Jako, że takie połączenie jest dość charakterystyczne, postanowiłem sprawdzić, czy istnieją inne białka, nie należące do rodziny Hsp40, które posiadałyby domenę zawierającą podobne połączenie wspomnianych motywów strukturalnych. Okazało się, że jedyną rodziną domen (w rozumieniu bazy CATH) spełniającą ten warunek są domeny immunoglobulinopodobne. Nasunęło mi to przypuszczenie, że CTD1 i domeny immunoglobulinopodobne są powiązane ewolucyjnie. Używając tylko i wyłącznie kryterium parsymonii stworzyłem scenariusz ewolucyjny opisujący jak mogło wyglądać przejście między tymi dwoma typami domen. Scenariusz ten, połączony z analizą zestawień sekwencji oraz analizą porównawczą modeli CTD1 i domen immunoglobulinopodobnych, zasugerował kilka nowych informacji o mechanizmie wiązania substratu przez CTD1: i) substraty białek Hsp40 mają około 10-12 reszt aminokwasowych, w przeciwieństwie do dotychczas używanych modeli 7-8 resztowych; ii) substraty są symetryczne w swojej sekwencji, zbudowane z jednego centralnego fragmentu i dwóch fragmentów flankujących; iii) centralny fragment zawiera co najmniej dwa hydrofobowe aminokwasy ustawione w mniej więcej tym samym kierunku w przestrzeni; iv) fragmenty flankujące są ujemnie naładowane.

Następnym etapem mojej pracy było przeprowadzenie szeregu symulacji dynamiki molekularnej przykładowej CTD1. W tych symulacjach zaobserwowałem: i) dwa hydrofobowe zagłębienia na CTD1 (które służą jako miejsca dokowania hydrofobowych reszt substratu) silnie fluktuują w czasie symulacji, co prawdopodobnie umożliwia CTD1 dostosowanie się do reszt hydrofobowych o różnych rozmiarach; ii) β -kardki z których składa się CTD1 mogą w jednym miejscu częściowo oddysocjować od siebie. Siłą napędową procesu dysocjacji jest dyfuzja cząsteczek wody pomiędzy

części β -kartek zawierające polarne reszty aminokwasowe.

Podjąłem również próbę przetestowania wyników moich badań *in vitro*, jednakże nie udało mi się uzyskać czystego preparatu wybranego przeze mnie, modelowego białka Hsp40. Moje obserwacje dają szerszą perspektywę na mechanizm wiązania substratu przez białka Hsp40. Co ciekawe, wydaje się, że białka Hsp40 rozpoznają fragmenty prawie identyczne jak ich molekularni partnerzy: białka Hsp70 - z tą różnicą, że fragmenty flankujące w substratach Hsp40 są ujemnie naładowane, a w substratach Hsp70 są naładowane dodatnio. Wyniki mojej pracy wskazują na możliwe kierunki dalszych eksperymentów (za równo *in vitro* jak i krystalograficznych), które prowadziłyby w stronę pełnego zrozumienia działania systemu Hsp70/40.