

# Mechanizm współdziałania białek Hsp70 i Hsp104 w procesie reaktywacji zagregowanych białek.

## STRESZCZENIE

Struktura natywna białek jest niezbędna do ich prawidłowego funkcjonowania. Na skutek jej zaburzenia, szczególnie w warunkach stresu, w komórce dochodzi do formowania agregatów białkowych. Organizmy żywe wykształciły system białek opiekuńczych, który przeciwdziała denaturacji i agregacji białek oraz umożliwia im ponowne fałdowanie do prawidłowej struktury.

Drożdżowe białko Hsp104, we współpracy z białkiem Hsp70, jest zdolne do solubilizacji i reaktywacji zagregowanych białek. Tym samym, Hsp104 warunkuje odporność komórek na stres i przedłuża ich żywotność. Hsp104 składa się z 4 domen: domeny N-końcowej, dwóch domen wiążących nukleotydy: NBD1 i NBD2 oraz domeny M. Tworzy heksamer, który ma postać spiralnego pierścienia, i jest zdolny do translokacji polipeptydów przez centralny kanał. Jednocześnie, Hsp104 oddziela je od agregatu i rozfałdowuje. Przetwarzanie substratów białkowych jest zależne od hydrolizy ATP przez domeny NBD.

W swoich badaniach skupiłam się na roli białka Hsp70 na poszczególnych etapach procesu dezagregacji agregatów białkowych przez Hsp104. Na podstawie eksperymentów *in vitro* wykazałam, że Hsp104 jest szczególnie wrażliwe na ADP i przy takich stężeniach nukleotydów adeninowych, jakie występują w komórkach drożdżowych, jego aktywność ATPazowa i zdolność do przetwarzania białek są na bardzo niskim poziomie. Jednakże, obecność białka Hsp70 umożliwia wydajną dezagregację białek, nawet przy stosunkowo wysokim stężeniu ADP. Uzyskane wyniki wskazują, że to rola Hsp70 w wiązaniu do agregatów warunkuje tolerowanie ADP przez Hsp104. Dodatkowo, zidentyfikowałam resztę aminokwasową w białku Hsp104, która jest kluczowa dla interakcji z Hsp70. Zaburzenie tego miejsca oddziaływania pokazało, że przyłączenie Hsp104 do agregatów białkowych przez Hsp70 odbywa się za pośrednictwem M-domeny. Co ciekawe, promowanie wiązania Hsp104 do substratów przez Hsp70 jest specyficzne dla agregatów i nie zaobserwowałam go w przypadku rozwiniętych, niezagregowanych substratów białkowych.

Ponadto, przeprowadzone badania sugerują mechanizm odpowiadający za zniesienie hamowania Hsp104 przez ADP. Proces przetwarzania białek, jeśli zostanie zainicjowany pomimo hamowania przez ADP, promuje wiązanie ATP i stymuluje aktywność ATPazową Hsp104. Zatem, substrat białkowy pełni pośrednią rolę czynnika wymiany nukleotydów.

Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na dodatkowy system regulacji dezagregazy Hsp104 przez białko Hsp70, w którym Hsp70 warunkuje specyficzność Hsp104 względem zagregowanych substratów białkowych, ograniczając potencjalnie toksyczną aktywność skierowaną na niezagregowane białka i zwiększając efektywność zużycia ATP.