

Hsp70 reguluje aktywność dezagregazy Hsp104 w odpowiedzi drożdży *Saccharomyces cerevisiae* na stres

Tomasz Chamera

STRESZCZENIE

Dezagregaza Hsp104 z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* należąca do rodziny białek opiekuńczych odgrywa kluczową rolę w reaktywacji białek uwięzionych w agregatach. Monomer Hsp104 składa się z domeny N-końcowej (NTD), dwóch domen wiążących nukleotydy typu AAA+ (NBD1 i NBD2), domeny M (MD) związanej z NBD1 i krótkiej domeny C-końcowej (CTD). Formą aktywną dezagregazy jest heksamer z kanałem umieszczonym centralnie wewnątrz struktury. Podczas reaktywacji, Hsp104 uwalnia łańcuch polipeptydowy z agregatów i translokuje go przez kanał centralny, przez co polipeptyd opuszczający kanał dezagregazy może odzyskać strukturę natywną. Efektywny proces dezagregacji wymaga współpracy pomiędzy Hsp104 a białkiem opiekuńczym Hsp70. Hsp70 wiąże się z agregatami, co umożliwia rekrutację Hsp104 do agregatów. Dodatkowo, oddziaływanie Hsp70 z domeną M Hsp104 aktywuje dezagregazę. Oddziaływanie pomiędzy Hsp70 a Hsp104 jest ważne dla procesu dezagregacji, lecz miejsce oddziaływania pomiędzy tymi białkami nie zostało jeszcze poznane.

W mojej pracy doktorskiej skupiłem się na roli białka Ssa1, drożdżowego Hsp70, w regulacji aktywności Hsp104 i określeniu znaczenia współpracy między tymi białkami dla efektywnej i wydajnej dezagregacji. Na podstawie porównania sekwencji aminokwasowych domen M, pochodzących z homologów Hsp104 z różnych organizmów, zidentyfikowałem w Hsp104 fenyloalaninę znajdującą się w pozycji 508, jako miejsce oddziaływania z Ssa1. Substytucja fenyloalaniny na alaninę w tej pozycji powoduje zerwanie oddziaływania pomiędzy dezagregazą a Ssa1, przez co dezagregaza nie jest w stanie wiązać się z agregatami, co uniemożliwia inicjację dezagregacji. Analizy *in vivo* pokazały, że drożdże posiadające mutację F508A nie wykazują odporności na stres temperaturowy, jednocześnie białko Hsp104 F508A nie jest w stanie rozpoznać agregatu w warunkach stresu komórkowego.

Uzyskane przeze mnie wyniki pokazują również, że oddziaływanie między dezagregazą a Hsp70 jest istotne dla ochrony komórek przed potencjalnie toksyczną aktywnością Hsp104, polegającą na rozfałdowywaniu natywnych białek posiadających nieustrukturyzowane regiony. Oddziaływanie Hsp104 z Hsp70 związanym z agregatami, przesuwa specyficzność substratową dezagregazy od białek z nieustrukturyzowanymi regionami do białek uwięzionych w agregatach.