

# Zastosowanie metod filogenetycznych do badania pochodzenia, funkcji oraz oddziaływań pomiędzy białkami systemów opiekuńczych Hsp70/JDP

mgr Milena Stolarska

Systemy JDP/Hsp70 składają się z białka opiekuńczego Hsp70 oraz białek posiadających domenę-J (JDP) są kluczowymi elementami proteostazy komórkowej pełniącymi ważne funkcje zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i podczas stresu lub patologii. Funkcje systemów JDP/Hsp70 obejmują m.in. fałdowanie nowo syntetyzowanych białek, transport polipeptydów przez błony, a także zapobieganie agregacji oraz dezagregacja agregatów białkowych, chroniąc w ten sposób komórki przed szkodliwymi efektami stresu i starzenia. Funkcje JDP/Hsp70 warunkowane są przez cykliczne wiązanie i uwalnianie substratów białkowych, kontrolowane przez wiązanie i hydrolizę ATP. JDP dostarczają substrat do partnerskiego Hsp70 lub kierują Hsp70 do określonej lokalizacji warunkując specyficzność substratową systemu. W niniejszej pracy przedstawiam wyniki zastosowania metod filogenetycznych takich jak rekonstrukcja drzew filogenetycznych, analiza koewolucji oraz rekonstrukcja sekwencji przodków do badania pochodzenia, funkcji i oddziaływań pomiędzy białkami wchodzącymi w skład systemów JDP/Hsp70.

JDP zostały podzielone na trzy klasy (A, B, C) ze względu na podobieństwo strukturalne do bakteryjnego JDP DnaJ z *Escherichia coli*; Białka klasy B mają unikatową zdolność zapobiegania agregacji amyloidów.

W pierwszej części pracy analizuję pokrewieństwa filogenetyczne JDP klasy A i B z 725 prokariotycznych i eukariotycznych proteomów. Uzyskane wyniki wspierają scenariusz ewolucyjny, w którym wszystkie eukariotyczne JDP zarówno klasy A jak i klasy B są spokrewnione z bakteryjnym DnaJ (klasa A). JDP klasy B ewoluowały niezależnie w wyniku duplikacji genów kodujących DnaJ (klasa A) u bakterii, w cytoplazmie komórki eukariotycznej i w retikulum endoplazmatycznym zwierząt. Wyniki te pokazują, że klasyfikacja JDP nie odzwierciedla ich zależności ewolucyjnych i powinna być zrewidowana.

W drugiej części analizuję pochodzenie ewolucyjne mitochondrialnego mtHsp70 zaangażowanego wraz z białkiem JDP (Hsc20) w proces biogenezy centrów żelazo siarkowych (FeS) - grup prostetycznych niezbędnych do funkcjonowania wielu białek. Moje wyniki pokazują, że mtHsp70 pochodzi od bakteryjnego wielofunkcyjnego Hsp70 (DnaK), które u bakterii nie funkcjonuje w procesie biogenezy FeS. Pokazują także, że bakteryjne Hsp70 wyspecjalizowane w biogenezie FeS (HscA) nie występuje w proteomach eukariotycznych sugerując, że HscA zostało utracone w procesie ewolucji mitochondriów i zastąpione w procesie biogenezy FeS przez potomka DnaK.

W trzeciej części pokazuję, że specyficzność oddziaływania pomiędzy domeną J białka JDP a partnerskim Hsp70 uwarunkowana jest przez koewolucję oddziałujących reszt aminokwasowych. Oddziaływanie domena-J/Hsp70 jest kluczowe dla stymulacji hydrolizy ATP i prawidłowego funkcjonowania systemów JDP/Hsp70. Dotychczas nie było jednak wiadomo czy reszty zaangażowane w to oddziaływanie są zmienne i czy koewoluja- to znaczy czy zmiana sekwencji w obrębie domeny J kompensowana jest przez zmianę sekwencji w obrębie Hsp70 i odwrotnie. Stosując dwa dobrze poznane systemy JDP/Hsp70 (DnaJ/DnaK) oraz Hsc20/mtHsp70) wykazałam, że reszty zaangażowane w te oddziaływania zmieniają się w procesie ewolucji, oraz że koewolucja oddziałujących reszt warunkuje specyficzność tych oddziaływań.