

Oddziaływania systemu Hsp70 z substratem białkowym oraz rola tych oddziaływań w zależnej od proteazy Lon degradacji substratu.

mgr Aneta Grabińska-Rogała

Białka Hsp70 współpracujące z białkami posiadającymi domenę J (JDP) to najbardziej rozpowszechnione systemy opiekuńcze zaangażowane w homeostazę białek, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak też w stresie i patologii. Mniej znane są wyspecjalizowane funkcje tych systemów, takie jak udział JDP/Hsp70 w procesie biogenezy centrów żelazo-siarkowych (FeS) – kofaktorów niezbędnych dla aktywności wielu białek. Niezależnie od tego czy system JDP/Hsp70 kontroluje proteostazę, czy też uczestniczy w biogenezie FeS, jego funkcja uwarunkowana jest odwracalnym wiązaniem substratu białkowego. Cykl wiązania substratu warunkowany jest przez zmiany konformacji Hsp70 kontrolowane poprzez hydrolizę ATP. ATPaza Hsp70 jest stymulowana allosterycznie poprzez wiązanie domeny J oraz wiązanie substratu. Przy czym domena J i substrat działają synergicznie – łącznie stymulują ATPazę wielokrotnie silniej niż w pojedynkę. Niewiele jednak wiadomo na temat molekularnego mechanizmu przebiegu tego cyklu.

Badania prowadzone przez nasz zespół mają na celu poznanie tego mechanizmu wykorzystując jako model wyspecjalizowane systemy JDP/Hsp70 uczestniczące w biogenezie FeS. Systemy te oddziałują tylko z jednym substratem - białkiem rusztowaniem w obrębie, którego FeS są syntetyzowane i z którego po oddziaływaniu z białkami opiekuńczymi są przekazywane na białka docelowe.

W niniejszej pracy rekonstruowałam biochemicznie potrójny kompleks Hsp70-JDP-substrat stanowiący kluczowy etap cyklu wiązania substratu przez białka opiekuńcze zaangażowane w biogenezę FeS. Wykazałam, stosując techniki precypitacji kompleksów białkowych i interferometrię bio-warstwy (BLI), że formowanie potrójnego kompleksu to proces dwuetapowy: (1) JDP tworzy kompleks z substratem, a następnie (2) rekrutuje Hsp70 poprzez oddziaływania JDP-Hsp70 i substrat-Hsp70. Przy czym zaburzenie każdego z tych oddziaływań uniemożliwia tworzenie kompleksu. Mechanizm wiązania Hsp70 do kompleksu JDP-substrat opisany w tej pracy tłumaczy również synergiczną stymulację aktywności ATPazowej Hsp70 przez JDP i substrat.

Charakteryzowałam również wpływ białek JDP/Hsp70 bakteryjnego systemu biogenezy FeS na degradację białka rusztowania (substratu) przez proteazę Lon. Wykazałam, że podobnie jak ma to miejsce w przypadku białek drożdżowych, wiązanie białek opiekuńczych chroni białko rusztowanie przed proteolizą. Otrzymane wyniki sugerują, że systemy JDP/Hsp70 uczestniczące w biogenezie FeS nie tylko umożliwiają przekazanie FeS z białka rusztowania na białka docelowe, ale również kontrolują poziom białka rusztowania w komórce chroniąc je przed degradacją.