

Komórka nieustannie narażona jest na działanie czynników stresowych, które mogą prowadzić do nieprawidłowego fałdowania białek i tworzenia agregatów białkowych. W celu zapobiegania takim zjawiskom komórki wykształciły system kontroli jakości białek. Jedną z jego strategii jest uwolnienie białek uwięzionych w agregatach i przywrócenie ich konformacji natywnej, w czym kluczową rolę odgrywa system Hsp70-Hsp100. Aktywność Hsp70 regulowana jest przez czynnik wymiany nukleotydów (ang. nucleotide exchange factor - NEF) i białka posiadające domenę J (ang. J-domain proteins - JDP). Białka JDP należą do klasy A lub B. Obecność różnych klas tych białek determinuje odmienny mechanizm interakcji Hsp70 z substratem białkowym, co ma decydujący wpływ na efektywność dezagregacji. Aby lepiej zrozumieć funkcjonalne oddziaływanie między Hsp70, jego pomocniczymi białkami opiekuńczymi i substratami białkowymi, zbadalam w jaki sposób cytoplazmatyczny NEF z rodziny Hsp110, Sse1, wpływa na aktywność Hsp70 w obecności białek JDP klasy A lub klasy B.

W mojej pracy doktorskiej użyłam oczyszczonych białek z organizmu modelowego *Saccharomyces cerevisiae*. Wykorzystując techniki biochemiczne, zbadalam wpływ Sse1 na aktywność drożdżowego Hsp70 (Ssa1) na różnych etapach dezagregacji w obecności białka JDP należącego do klasy A (Ydj1) lub klasy B (Sis1). Zaobserwowałam, że Sse1 ma istotny wpływ na początkowym etapie dezagregacji, natomiast nie bierze udziału w końcowym fałdowaniu substratów białkowych. Sse1 znacząco stymuluje aktywność dezagregacyjną Hsp70, jak również jego wiązanie do agregatów, jednak ten pozytywny efekt jest obserwowany tylko w obecności JDP klasy B. Korzystny wpływ Sse1 jest związany z modyfikacją agregatów, prowadzącą do ich zmniejszenia. Zmiana wielkości agregatów białkowych prawdopodobnie wynika ze zwiększonej ilości Hsp70 związanego z powierzchnią agregatu, na skutek działania Sse1. Kluczowe dla obserwowanych zjawisk jest charakterystyczne dla białek JDP klasy B dodatkowe miejsce wiązania z Hsp70, pomiędzy C-terminalną domeną JDP, a motywem EEVD obecnym w Hsp70. Zaburzenie tego oddziaływania znosi stymulację przez Sse1.

Z doniesień literaturowych wynika, że wpływ Sse1 na aktywność Hsp70 zależy od jego ilościowego stosunku do Hsp70. Wykazano, że Sse1 stymuluje dezagregację białek tylko przy bardzo niskim stężeniu w stosunku do Hsp70, natomiast powyżej tego substechiometrycznego optimum obserwowana jest inhibicja. W mojej pracy doktorskiej analizowałam efekt hamujący Sse1 i pokazałam, że w zależności od tego

czy obecna jest klasa A czy klasa B JDP, wrażliwość systemu Hsp70 na wysokie stężenie Sse1 różni się. Moje obserwacje wskazują również na istnienie dodatkowego mechanizmu inhibicji przez Sse1 w obecności białek JDP klasy B, w którym hamowanie wynika z konkurencji pomiędzy Sse1 a Sis1 o wiązanie do Hsp70.

Z uwagi na to, iż Metazoa nie posiadają białka Hsp100 i polegają w dezagregacji białek jedynie na Hsp70, chciałam również zbadać, jak ludzki Hsp110 wpływa na aktywność ludzkiego systemu Hsp70. Zaobserwowałam podobne trendy, jak w przypadku systemu drożdżowego, z tą różnicą, że ludzki system Hsp70 jest bardziej zależny od Hsp110 i mniej wrażliwy na działanie wysokiego stężenia Hsp110. Obserwowane wyniki stanowią podstawę do dalszych badań nad rolą NEF w funkcjonowaniu systemu Hsp70 u ludzi i innych eukariontów.