

## Maszynaria białek opiekuńczych w odzyskiwaniu białek z amorficznych i fibrylarnych agregatów

Białka, w szczególności te pełniące funkcje regulatorowe charakteryzują się niewielką stabilnością. W związku z tym stosunkowo łatwo tracą strukturę, co powoduje ich agregację. W komórkach wykształciły się mechanizmy pozwalające na aktywne odzyskiwanie aktywnych białek z takich agregatów. Te mechanizmy są istotne, gdyż pozwalają przeżyć komórce warunki stresowe, w których agregacja białek jest niezwykle nasiloną. Procesy dezagregacji łańcuchów polipeptydowych uwięzionych w agregatach i odzyskiwanie przez te łańcuchy właściwej konformacji zależą od obecności białek opiekuńczych. Są to białka z rodziny Hsp70 wraz z białkami pomocniczymi, oraz dezagregaza z rodziny Hsp100. W ramach realizacji projektu zbadamy mechanizmy istotne dla procesów dezagregacji i odzyskiwania przez zdenaturowane białka struktury. Szczególny nacisk położymy na funkcje pomocniczych białek opiekuńczych, które regulują aktywność Hsp70, w tych procesach.

Główna metoda badawcza opiera się na rekonstrukcji z oczyszczonych białek układu zdolnego do wydajnej dezagregacji i fałdowania polipeptydów uwolnionych z agregatów. Jako substratów poddawanych agregacji użyjemy białek dla których łatwo można wnioskować o prawidłowości ich konformacji na podstawie pomiaru ich aktywności enzymatycznej bądź zdolności do fluorescencji. W naszych badaniach użyjemy szeregu wariantów białek opiekuńczych. Obecność części z tych wariantów w komórkach powoduje powstanie charakterystycznych fenotypów. Analiza aktywności wariantów w połączeniu z wiedzą o strukturze analizowanych białek pozwoli nam na wnioskowanie o ich właściwych funkcjach oraz mechanizmie działania oraz współdziałaniu białek w procesach kontroli agregacji i dezagregacji białek. W ramach naszych badań użyjemy szeregu technik badawczych takich jak pomiary enzymatyczne, pomiary techniką interferometrii bio-warstwowej, pomiary fluorescencji, mikroskopia elektronowa, pomiary techniką rezonansu plazmonowego, itp.

Prowadzone badania uważamy za ważne, gdyż ich realizacja przyczyni się do opisanie mechanizmów rządzących tak istotnym biologicznym procesem jak kontrolą jakości białek w komórce. Dezagregacja i ponowne fałdowanie zagregowanych białek jest istotniejsze z punktu widzenia przeżycia komórek niż degradacja białek w agregatach do pojedynczych aminokwasów. Zbadanie i opisanie tego procesu, w szczególności zrozumienie współdziałania białek opiekuńczych z różnych rodzin w tych procesach będzie istotne dla rozwoju biologii. W szczególności prowadzone są badania mające na celu zastosowanie białek opiekuńczych Hsp70 i Hsp100 jako narzędzi do usuwania z komórek agregatów białkowych powstających w rozwoju szeregu chorób neurodegeneracyjnych.