

**Tytuł rozprawy:** Analiza struktury kompleksów tworzonych przez małe białka szoku cieplnego IbpA i IbpB oraz kompleksów tych białek z substratami

**Tytuł w języku angielskim:** Structural analysis of complexes formed by small heat shock proteins IbpA and IbpB and complexes formed by these proteins with substrates

## STRESZCZENIE

---

Zachowanie homeostazy białek jest niezwykle ważne dla przeżycia komórki. Białka opiekuńcze pełnią w tym procesie centralną funkcję. Jedną z rodzin tych białek są małe białka szoku termicznego (sHSPs). Białka te są nietypowe, ze względu na całkowicie pasywny mechanizm działania. Uznaje się, że wiążą się one do rozfałdowanych polipeptydów, blokując agregację lub modyfikując proces agregacji w taki sposób, aby stymulować późniejszą reaktywację substratów. Posiadają one szczególną strukturę czwartorzędową. Monomery o niskiej masie cząsteczkowej (zwykle pomiędzy 12 a 25 kDa) formują duże oligomery, często o masie rzędu Megadaltonów. Oligomery te często posiadają wielopoziomą architekturę, z dimerem jako podstawową jednostką budulcową. Struktura monomeru jest wysoce konserwowana ewolucyjnie. Wszystkie sHSP posiadają domenę  $\alpha$ -krystalinową. Jej nazwa pochodzi od białka soczewki oka,  $\alpha$ -krystaliny, będącego pierwszym opisanym białkiem tej rodziny. Poza tą domeną białka te posiadają różnej długości słabo ustrukturyzowane odcinki N- oraz C-terminalne. Niemal wszystkie białka tej rodziny tworzą oligomery, jednak ich architektura jest bardzo różnorodna. Do tej pory nie poznano jaka jest zależność pomiędzy aktywnością białka opiekuńczego a procesem oligomeryzacji.

W niniejszej pracy, skoncentrowałem się na analizie dwóch oddziałujących ze sobą małych białek szoku cieplnego *Escherichia coli* - IbpA oraz IbpB. Moim celem była charakteryzacja morfologii oraz struktury oligomerów, zdefiniowanie podstawowej jednostki budulcowej oligomeru, oraz próba zbadania architektury koagregatów sHSP-substrat. Morfologię agregatów badałem z zastosowaniem metod dynamicznego rozpraszania światła oraz mikroskopii sił atomowych. Wszystkie możliwe oligomery - homooligomery IbpA oraz IbpB, oraz heterooligomer IbpA/IbpB tworzą duże, fibrylarne struktury. Aby scharakteryzować podstawową jednostkę budulcową użyłem izolowanych domen  $\alpha$ -krystalinowych, w celu redukcji złożoności układu wynikającej z oligomeryzacji. Jako, że preferowana podjednostka budulcowa okazała się być heterodimerem IbpA/IbpB, w dalszej części pracy analizowałem tworzony przez nie heterooligomer jako najbliższy natywnej strukturze czwartorzędowej. Następnie zastosowałem wprowadzany kotranslacyjnie aminokwas sieciujący do dokładniejszej analizy struktury oligomeru. Pozyskane dane pozwoliły zaproponować strukturę tetrameru tworzonych przed dwa dimery IbpA/IbpB. Ponadto, spróbowałem zastosować tę metodę sieciowania do analizy architektury kompleksów sHSP-substrat. Wyniki sugerują, że białka te ulegają deoligomeryzacji podczas wiązania substratu, oraz mieszają się z nim podczas koagregacji. Ten scenariusz wymaga jednak dalszych badań.

Najważniejszym rezultatem tej pracy jest stwierdzenie, że podstawową jednostką budulcową heterooligomeru IbpA/IbpB jest heterodimer IbpA/IbpB. Poza tym, byłem w stanie zaproponować strukturę podjednostki wyższego rzędu (tetrameru), oraz ogólną morfologię oligomerów. Wyniki te mogą być wykorzystane do przeprowadzenia bardziej ukierunkowanych eksperymentów, mogących pokazać strukturę przyjmowaną przez IbpA oraz IbpB *in vivo* jak również ich strukturę wewnątrz koagregatów sHSP-substrat.