

Białka odgrywają kluczową rolę w każdym procesie komórkowym. Nie da się zrozumieć funkcjonowania organizmów żywych bez zrozumienia funkcjonowania białek. Są one makrocząsteczkami złożonymi z reszt aminokwasowych połączonych w łańcuch polipeptydowy. Sekwencja aminokwasów determinuje zwijanie łańcucha polipeptydowego w ostateczną, funkcjonalną strukturę. Jednak w przypadku wielu białek zwijanie może się nie powieść i zamiast natywnej struktury białka osiągają stan nieprawidłowego sfałdowania. Nieprawidłowo sfałdowane białka silnie wiążą się ze sobą, tworząc nierozpuszczalne agregaty. Aby przeciwdziałać nieprawidłowemu fałdowaniu białek i utracie ich funkcji, komórka posiada kilka systemów ochronnych, składających się z białek opiekuńczych. Są to białka, które oddziałując z łańcuchem polipeptydowym, zapobiegają jego nieprawidłowemu fałdowaniu i agregacji oraz kierują nieprawidłowo sfałdowane białka z powrotem na prawidłowe ścieżki zwijania.

Niektóre białka wymagają białek opiekuńczych nie tylko podczas zwijania, ale także do regulacji ich funkcji. Jednym z takich białek jest receptor glikokortykosteroidowy (GR), który wiąże glikokortykosterydy, np. kortyzol, i aktywuje syntezę wielu białek. Tego typu odpowiedź komórki na sygnał hormonalny z kory nadnerczy odgrywa kluczową rolę w wielu procesach, m.in. łagodzi stany zapalne, stymuluje rozkład tłuszczu, syntezę glukozy i jest bardzo ważny dla rozwoju płodu. Zmniejszone stężenie GR lub jego nieprawidłowa regulacja stanowią podłoże wielu chorób. Zapobieganie i leczenie tego typu schorzeń wymaga dogłębnego zrozumienia roli białek opiekuńczych w zwijaniu i regulacji białek, takich jak GR.

W regulacji i zwijaniu GR biorą udział białka opiekuńcze należące do dwóch rodzin: Hsp70 i Hsp90. W procesie fałdowania różnych białek, tzw. substratów białkowych, owe białka opiekuńcze współpracują nie tylko ze sobą nawzajem, ale także z białkami pomocniczymi, które regulują ich aktywność, rozpoznawanie różnych substratów oraz pośredniczą w przekazywaniu substratów z jednego białka opiekuńczego do drugiego. Jednym z takich białek jest HOP, warunkujący współpracę pomiędzy Hsp70 i Hsp90.

U człowieka, w cytoplazmie znajduje się 5 różnych białek z rodziny Hsp70. Jednym z nich jest HSPA1L. Mimo że jest ono bardzo podobne do innych Hsp70, zarówno pod względem struktury, jak i funkcji, ostatnie dane literaturowe wykazały jego szczególnie silne wiązanie do białka pomocniczego HOP, co sugeruje, że współpraca HSPA1L z Hsp90 może zachodzić inaczej, niż w przypadku pozostałych Hsp70.

HSPA1L wyróżnia się spośród innych białek Hsp70 pod względem ilości tzw. mutacji o znaczeniu klinicznym, czyli zmian w obrębie genu, które występują znacząco częściej u pacjentów z danym schorzeniem, niż w zdrowej populacji. W genie HSPA1L zidentyfikowano kilkanaście takich mutacji, o potencjalnym związku, m.in.: z przedwczesnym porodem, nieswoistym zapaleniem jelit, stwardnieniem rozsianym oraz reumatoidalnym zapaleniem stawów. Każde z tych schorzeń dotyka miliony ludzi na całym świecie, powodując ciężkie objawy, prowadzi do dziesiątek tysięcy zgonów oraz jest powiązane ze stanem zapalnym, co może wskazywać na rolę GR w ich etiologii. Nie wiadomo jak dotąd, w jaki sposób mutacje w genie HSPA1L wpływają na te schorzenia, jednakże eksperymenty na komórkach wykazały, że jedna z mutacji powoduje obniżenie stężenia GR, co wskazuje na udział HSPA1L we wspólnej z Hsp90 regulacji tego białka. Celem niniejszego projektu jest zbadanie wpływu znanych mutacji o znaczeniu klinicznym na funkcjonowanie białka HSPA1L. Zbadam, czy mutacje te wpływają na strukturę HSPA1L oraz czy zaburzają hydrolizę ATP, zdolność do fałdowania białek, wiązanie białek pomocniczych lub współpracę z innymi białkami opiekuńczymi. Ponadto ocenię, czy białko HSPA1L współpracuje z Hsp90 w procesie zwijania nieprawidłowo sfałdowanych białek oraz w regulacji wiązania hormonu glikokortykosteroidowego przez GR.

Aby odpowiedzieć na powyższe pytania, białka opiekuńcze, łącznie z wariantami HSPA1L, zostaną wyprodukowane w systemie bakteryjnym i oczyszczone. Następnie, zbadam aktywność systemu białek opiekuńczych odtworzonego *in vitro*, w ściśle kontrolowanych warunkach, wykorzystując różnego rodzaju techniki biochemiczne, z których większość jest rutynowo stosowana w naszym laboratorium. Tego typu podejście badawcze pozwoli nie tylko na zweryfikowanie hipotezy o zaangażowaniu HSPA1L w zależne od Hsp90 fałdowanie substratów białkowych, ale także na lepsze zrozumienie mechanizmów funkcjonowania białek Hsp70, w szczególności dotyczących oddziaływania pomiędzy różnymi członkami rodziny Hsp70.

Na koniec zbadam, jak mutacje w genie HSPA1L wpływają na aktywność receptora glikokortykoidowego w komórkach człowieka. Upośledzenie regulacji GR przez białka opiekuńcze spowodowałoby, że komórki nie reagowałyby na hormony glikokortykoidowe. Efekt taki można wykryć, mierząc poziomy białek, których produkcja zależy od GR. Obniżony poziom tych białek mimo obecności hormonu steroidowego wskazywałby na poważne zakłócenia w sygnalizacji komórkowej zależnej od receptora glikokortykosteroidowego.

Podsumowując, proponowane badania pozwolą lepiej zrozumieć rolę HSPA1L jako czynnika ryzyka w schorzeniach stanowiących bardzo poważne wyzwania dla współczesnych społeczeństw oraz mogą doprowadzić do odkrycia niezbadanych mechanizmów regulacji białek opiekuńczych z rodziny Hsp70.