

Abstrakt

Příbuzný protein teplotního šoku (HSC70) je 71 kDa chaperon patřící ke všudypřítomné rodině proteinů teplotního šoku 70 (Hsp70). Zástupci této proteinové rodiny jsou považováni za molekulární stroje s ATPázovou aktivitou, které usnadňují správné sbalování prostorové struktury proteinů jak za normálních, tak i za stresových podmínek (hypoxie, tepelný šok, či kolísání pH). HSC70 navíc funguje jako enzym rozbalující vrstvu triskelionu na povrchu klatrinových váčků. Další rolí HSC70 je např. zamezení agregace proteinů, asistence při maturaci polypeptidového řetězce a usnadnění transportu proteinů do organel, jako jsou endoplazmatické retikulum a mitochondrie. HSC70 se účastní směrování proteinů určených k degradaci do lysosomů a v mnoha dalších kriticky důležitých buněčných procesech spojených s homeostází proteinů. Tudíž, regulace HSC70 a jiných proteinů HSP70 je považována za velmi důležitou, obzvláště v kontextu buněčného stresu. Na základě experimentálních pozorování byl navržen mechanismus inaktivace za pomoci oligomerizace. Dimery a trimery proteinů Hsp70 byly identifikovány jak u prokaryotických, tak u eukaryotických homologů. Byla také diskutována role proteinového kofaktoru Hsp40 ve stimulaci oligomerizaci Hsp70 do vyšších oligomerů. Tento a jiné možné modely oligomerizace „divoké“ varianty HSC70 a určité sady mutantů HSC70 byly studovány pomocí hmotnostní spektrometrie s použitím síťovacích činidel. Díky omezení vzdáleností mezi určitými aminokyselinovými zbytky, které je určeno délkou zvoleného síťovadla, bylo možné vytvořit strukturní modely oligomerů HSC70. Abychom zlepšili prostorové rozlišení síťovacího experimentu a dokázali přesně namapovat identifikované zesíťení, byly studované proteiny připraveny ve formách ^{14}N a ^{15}N .

Klíčová slova: Strukturní biologie, hmotnostní spektrometrie, Struktura proteinů, Interakce proteinů, Alosterie, Chaperony, Proteiny teplotního šoku, HSC70