

20/06/2023

Wpływ rybosomu na uwalnianie i zwijanie białek

Streszczenie

Białka są syntetyzowane przez wielkocząsteczkowe maszyny zwane rybosomami, które znajdują się w komórkach wszystkich gatunków, od bakterii po ludzi. Wykonują one różne zadania niezbędne do podtrzymania życia, ale aby pełnić swoje funkcje, wiele białek musi najpierw samo przybrać specyficzną strukturę znaną jako stan natywny, a proces osiągnięcia go nazywany jest zwijaniem białek. Zwijanie izolowanych białek jest badane od ponad pół wieku, jednak w komórkach białka są tłumaczone przez rybosom na podstawie informacji zawartych w sekwencji mRNA i po syntezie wychodzą przez tunel wyjściowy do cytozolu. Białka mogą uzyskać strukturę trzeciorzędową na dowolnym etapie: podczas ich biosyntezy, gdy są uwalniane przez tunel wyjściowy rybosomu lub potranslacyjnie - po ich uwolnieniu z rybosomu. Różne badania obliczeniowe i eksperymentalne wykazały, że białka mogą zacząć się zwijać, gdy są nadal syntetyzowane przez rybosom. W zjawisku tym, znanym jako kotranslacyjne zwijanie, pośredniczą ograniczenia przestrzenne rybosomalnego tunelu wyjściowego, a także oddziaływania między powstającym łańcuchem a powierzchnią rybosomu. Czynniki te mogą potencjalnie wpływać na kinetykę i ścieżki zwijania białek, dlatego też tak ważne jest zrozumienie zachowania białek na wczesnych etapach ich istnienia.

Praca doktorska zawiera trzy projekty obliczeniowe opisujące zwijanie białek w rybosomie. Opis rybosomu i procesu zwijania białek w rybosomie jest podsumowany w rozdziale 1., z kolei rozdział 2. opisuje metody obliczeniowe, skupiając się na modelowaniu molekularnym i analizach używanych w badaniach przedstawionych w tej dysertacji. W rozdziale 3. opisano proces uwalniania powstającego białka z tunelu wyjściowego rybosomu. Ten proces nie był wcześniej badany, ponieważ uważano, że jest szybki, wykazuje jedynie niewielkie zmiany między białkami i nie ma znaczenia biologicznego. Wykorzystując kombinację modelowania wieloskalowego i analizy profilowania rybosomów, znaleźliśmy ponad 1000-krotną różnicę w czasach uwalniania białek z rybosomu. Powstające białka wzbogacone w reszty o ładunku ujemnym w pobliżu ich C-końca są uwalniane najszybciej, podczas gdy białka wzbogacone w reszty o ładunku dodatnim mają tendencję do znacznie wolniejszego uwalniania z rybosomu. Pełnoatomowe symulacje sterowanej dynamiki molekularnej wykazały, że wymagane jest włożenie wyższej pracy, aby wyciągnąć białka powoli uwalniane z tunelu wyjściowego niż te uwalniane szybko. Natomiast dekompozycja członów energii ujawniła, że powolne uwalnianie spowodowane jest silnymi przyciągającymi oddziaływaniami elektrostatycznymi pomiędzy powstającym łańcuchem a ujemnie naładowanym kanałem rybosomu z związanym RNA, podczas gdy szybkie uwalnianie białek spowodowane jest ich odpychającymi oddziaływaniami elektrostatycznymi z tunelem wyjściowym. Dane z profilowania rybosomów z *Escherichia coli* pokazują, że obecność sekwencji białek, które są uwalniane powoli koreluje z dłuższym czasem spędzonym przez rybosomy na kodonach stop, co wskazuje, że proces uwalniania może opóźniać recykling rybosomu.

Rozdział 4. przedstawia wyniki symulacji pełnoatomowych dotyczących oddziaływań hydrofobowych w przypadku obecności rybosomu oraz jego braku (w roztworze). Badania wykazały, że oddziaływania między rybosomem a powstającym białkiem w przedśionku tunelu wyjściowego rybosomu (ostatnie 3 nm tunelu wyjściowego, gdzie może nastąpić zwijanie struktur trzeciorzędowych) mogą destabilizować powstające domeny. Za pomocą obliczeń potencjału średniej siły pomiędzy dwoma cząstkami metanu wzdłuż linii środkowej tunelu wyjściowego rybosomu i w roztworze sprawdziliśmy, czy do tej destabilizacji przyczynia się osłabienie asocjacji hydrofobowej, która jest siłą napędową zwijania białek. Wyniki wskazują, że związane cząsteczki metanu są dwa razy mniej stabilne w przedśionku rybosomu w porównaniu z warunkami w roztworze, co dowodzi, że efekt hydrofobowy jest osłabiony przez obecność rybosomu. Dodatkowo stwierdziliśmy, że osłabienie efektu hydrofobowego wynika z większego uporządkowania cząsteczek wody w obecności rybosomu. Te odkrycia oznaczają, że powstające białka przechodzą przez środowisko przedśionka rybosomu, które może destabilizować zwijające się struktury, a to z kolei może potencjalnie wpływać na ścieżki zwijania białek kotranslacyjnych, a także na ich energetykę i kinetykę.

W Rozdziale 5. opisano i porównano wpływ syntezy białek i zwijania posttranslacyjnego na efektywność zwijania ze stanów zdenaturowanych w stosunku do zwijania w roztworze. Gruboziarniste symulacje dynamiki molekularnej zostały użyte do porównania, jak reduktaza dihydrofolianowa (DHFR), acetylotransferaza chloramfenikolowa typu III (CAT-III) i ligasa B D-alaniny–D-alaniny zwijają się podczas i po syntezie na rybosomie, w porównaniu do zwijania ze stanu rozwiniętego w roztworze. Wyniki wskazują, że wpływ rybosomów na efektywność zwijania białek zależy od ich wielkości i złożoności. Dla małych, prostych struktur (DHFR), rybosom ułatwia efektywne zwijanie, zapobiegając nieprawidłowemu zwijaniu, jednak dla większych, bardziej złożonych białek (CAT-III i DDLB), rybosom może nie sprzyjać zwijaniu i może przyczynić się do powstawania nieprawidłowo zwiniętych struktur podczas translacji. Dodatkowo stwierdzono, że efektywność zwijania koreluje z zaplątaniem obecnym w strukturze natywnej.

Rozdział 6. podsumowuje wnioski z mojej pracy i kierunki przyszłych badań.



Quyen Vu