

STRESZCZENIE

Analiza zależności pomiędzy strukturą i funkcją produktów proteolitycznego procesowania Nukleobindyny-2

Nesfatyna-1 (N1), -2 (N2) i -1/2 (N1/2) są produktami proteolitycznego procesowania końca N Nukleobindyny-2 (Nucb2) przez konwertazy prohormonów (PCs, ang. *prohormone convertases*). Nucb2 i/lub N1 (Nucb2/N1) są białkami zaangażowanymi w szereg istotnych funkcji biologicznych, takich jak: regulacja homeostazy energetycznej; odpowiedź na bodźce stresowe; karcynogeneza; patogeneza chorób psychiczno-neuronalnych; czy regulacja ciśnienia osmotycznego krwi. Rola pozostałych nesfatyn pozostaje nieznana. Relacja pomiędzy strukturą i funkcją nesfatyn wciąż jest zagadnieniem praktycznie nie podejmowanym w literaturze. W związku z tym mając na uwadze wielofunkcyjność Nucb2/nesfatyn, ich powszechną ekspresję i potencjał zastosowań medycznych badania relacji struktura-funkcja zasługują na szczególną uwagę.

W ramach rozprawy doktorskiej otrzymano 5 homologów nesfatyn z dwóch gatunków, tj. ludzką N1, N2, N1/2 oraz kurzą N1 i N1/2. Powyższe białka poddano następnie wnikliwej analizie strukturalnej i porównawczej. Warto podkreślić, iż jest to pierwsza i jedyna jak dotąd tego typu analiza.

Uzyskane wyniki wskazują na zachowaną w toku ewolucji silnie nieuporządkowaną strukturę ludzkich i kurzych homologów apo-N1, które wykazywały silnie wydłużoną i cylindryczną budowę. Natomiast strukturę homologów apo-N1/2 można określić jako mozaikową z przeplatającymi się regionami uporządkowanymi i IDRs o kształcie wydłużonej elipsoidy. Na podstawie uzyskanych wyników zaproponowano strukturalną rolę N2, która nadaje N1 w jej kontekście (N1/2) odmienne właściwości. Przy czym N1/2, okazała się nie wykazywać właściwości będących prostą sumą efektów obserwowanych dla izolowanych fragmentów. W związku z powyższym proteolityczne procesowanie Nucb2/N1/2 może być elementem aktywacyjnym prowadzącym do uwolnienia silnie nieuporządkowanego charakteru homologów N1 i ich oddziaływania z wieloma partnerami białkowymi.

Jony Zn(II) wywoływały silne zmiany we właściwościach i konformacji nesfatyn. W przypadku ludzkich i kurzych homologów holo-N1 obserwowano silne przejście nieuporządkowanie-uporządkowanie indukowane jonami Zn(II), które wiązało się z silnym zmniejszeniem objętości hydrodynamicznej homologów holo-N1 i protekcją szkieletu głównego regionu M30 przed wymianą H/D. Ponadto wiązanie powyższych jonów skutkowało również dimeryzacją neuropeptydów. Kurza holo-N1 cechowała się dodatkowo tendencją do agregacji, czego nie obserwowano dla homologu ludzkiego. Strukturyzacja i zmiana stanu oligomerycznego holo-N1 wydaje się uniwersalna przez co mogłaby umożliwić oddziaływanie z inną pulą partnerów białkowych. Dodatkowo, mniejsza dostępność anoreksygenicznego rdzenia homologów N1 może mieć istotny wpływ na działanie neuropeptydu. Z drugiej strony wiązanie jonów Zn(II) przez homologi holo-N1 cechowało się również powstaniem motywu amyloidowego, co wskazuje na możliwość zaangażowania holo-N1 w procesach neurodegeneracyjnych. Wiązanie jonów Zn(II) przez hN2 oraz ludzkie i kurcze homologi N1/2 związane było z kolei z silną destabilizacją białek. Kurzy homolog N1/2 wykazywał większą tendencję do zmiany oligomeryzacji i agregacji pod wpływem jonów Zn(II) oraz cechował się odmiennym sposobem oddziaływania z nimi. Co interesujące, pod wpływem jonów Zn(II) obserwowano silną ekspozycję szkieletu głównego trzech regionów homologów holo-N1/2, zwłaszcza w rejonie M30 oraz zawierającym miejsce rozpoznawane przez PCs. Możliwe zatem, iż proteolityczna obróbka białek prekursorowych N1, ich aktywność biologiczna i lokalizacja jest zależna od jonów Zn(II).

Przeprowadzone analizy strukturalne przyczyniły się zatem do głębszego zrozumienia relacji pomiędzy strukturą oraz funkcją ludzkich i kurzych nesfatyn, a także stanowią podstawę do realizacji dalszych badań tego zagadnienia.

Rafał Saw