

Małgorzata Rydzy

Temat rozprawy doktorskiej: „Strukturalna i funkcjonalna charakterystyka białek opiekuńczych zaangażowanych w biosyntezę RuBisCo”

Streszczenie

Karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanu (Rubisco) jest najobficiej występującym białkiem w biosferze. Enzym ten jest odpowiedzialny za przyłączenie atmosferycznego CO₂ do rybulozo-1,5-bis-fosforanu (RuBP) podczas cyklu Calvina Bensona Basshama, znanego również, jako faza ciemna fotosyntezy. Efektem następującego po tym cyklu reakcji jest powstanie dwóch cząsteczek kwasu 3-fosfoglicerynowego, będącego wyjściowym związkem dla wielu szlaków anabolicznych. Oprócz reakcji karboksylacji Rubisco może przeprowadzać również reakcję oksygenacji (przyłączania O₂ do RuBP). W wyniku tej reakcji powstaje fosfoglikolan, który jest toksyczny dla komórki. Jest to zatem niekorzystna reakcja, podczas której komórka traci energię w postaci ATP. Oprócz reakcji oksygenacji, czynnikiem limitującym fotosyntezę jest fakt, że Rubisco jest wolnym enzymem, co oznacza, że może przeprowadzić tylko kilka reakcji karboksylacji na sekundę. Jest to jednocześnie jedyny enzym w przyrodzie, umożliwiający włączenie materii nieorganicznej w organiczną na dużą skalę.

Ze względu na to, że Rubisco jest enzymem wolnym oraz niedokładnym, od lat poszukuje się metod na poprawę jego parametrów kinetycznych. Główną przeszkodą w tym przedsięwzięciu jest skomplikowany proces biosyntezy Rubisco, utrudniający, a niekiedy uniemożliwiający testowanie potencjalnie korzystnych pod kątem kinetycznym mutacji enzymu. Rubisco występuje w czterech różnych formach, z czego to forma I występująca u alg, cyjanobakterii oraz roślin wyższych jest tą, której jest najwięcej na Ziemi.

Do niedawna niemożliwe było uzyskanie aktywnej, roślinnej Rubisco w komórkach bakteryjnych. W 2017 grupa naukowców, jako pierwsza przedstawiła heterologiczną ekspresję roślinnej Rubisco w komórkach *E.coli*, która wymagała jednoczesnej koekspresji aż pięciu białek opiekuńczych. Co ciekawe Rubisco sinicowe, będące również formą I (podobnie do roślinnej wersji) ekspresjonuje się w bakteriach tylko z jednym sinicowym chaperonem RbcX (lub w niektórych przypadkach bez). Jednakże Rubisco pochodzące z sinicy *Synechocystis* sp. PCC6803 nie ekspresjonuje się funkcjonalnie w bakteriach, co sugeruje, że jest wymagany dodatkowy czynnik do tego procesu.

Uważa się, że w proces biosyntezy Rubisco mogą być zaangażowane białka z rodziny Hsp40/70, czyli białka DnaJ oraz DnaK. Dotychczas w literaturze widniała tylko jedna wzmianka na ten temat, mówiąca o tym, że w ekspresję sinicowego Rubisco w bakteriach zaangażowane są białka DnaJ/DnaK/GrpE z *E.coli*. Jednakże nie zidentyfikowano, żadnych, wyspecjalizowanych, sinicowych homologów tych białek. U *Synechocystis* sp. PCC6803 kodowane jest aż siedem homologów białka DnaJ oraz trzy białka DnaK.

Celem niniejszej pracy było: zidentyfikowanie czy białka z rodziny Hsp40 oraz Hsp70 są zaangażowane w proces biosyntezy Rubisco z *Synechocystis* sp. PCC6803.