

„Udział ludzkich paralogów białka VDAC w przeciwdziałaniu skutkom stresu oksydacyjnego wywołanego brakiem dysmutaz wewnątrzkomórkowych”

Streszczenie

W mitochondriach zachodzi proces oddychania komórkowego, którego substraty i metabolity są transportowane przez kanał VDAC zlokalizowany w zewnętrznej błonie mitochondrialnej. To białko kanałowe transportuje również drobne cząsteczki i jony nieorganiczne oraz oddziałuje z wieloma białkami mitochondrialnymi i komórkowymi, dzięki czemu pośredniczy w regulacji funkcjonowania mitochondriów i całej komórki. VDAC może występować w postaci paralogów, np. u drożdży występują 2 paralogi (yVDAC1 i yVDAC2), a u człowieka występują 3 (hVDAC1, hVDAC2 i hVDAC3), podobnie jak u innych ssaków i kręgowców.

Podczas procesu oddychania komórkowego, oprócz cząsteczek „niosących” energię, powstają także reaktywne formy tlenu (ROS, *ang.* reactive oxygen species), których nadmiar w komórce zwiększa ryzyko uszkodzeń i mutacji. Naturalnie nadmiar ROS usuwają enzymy antyoksydacyjne, wśród których kluczową rolę pełni dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), występująca w komórkach w postaci dwóch form. SOD1 (CuZnSOD) występuje w różnych strukturach komórkowych, także w mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej, natomiast SOD2 (MnSOD) zlokalizowana jest w macierzy mitochondrialnej. Zwiększony poziom ROS stanowi wskaźnik stresu oksydacyjnego, któremu z kolei komórka może przeciwdziałać uruchamiając odpowiednie mechanizmy obronne. Dostępne dane wskazują, że w odpowiedzi komórek człowieka na stres oksydacyjny istotną rolę może odgrywać hVDAC3, któremu przypisuje się funkcję czujnika stanu redukcyjno-oksydacyjnego (stan redoks; z *ang.* redox sensitive VDAC; rsVDAC), co z kolei wynikać może z liczby oraz swoistej lokalizacji reszt cysteiny w sekwencji tego białka.

W związku z tym, celem niniejszej pracy było określenie częstości występowania rsVDAC poza grupą kręgowców oraz skonstruowanie modelu drożdżowego pozwalającego na analizę funkcjonalności poszczególnych paralogów VDAC człowieka w warunkach stresu oksydacyjnego. W realizacji tego celu wykorzystano narzędzia do przewidywania struktur drugorzędowych badanych białek, a następnie rozmieszczenia reszt cysteiny, w celu określenia częstości występowania rsVDAC w zależności od liczby paralogów VDAC oraz poziomu złożoności organizmów, ich środowiska życia i ich trybu życia oraz technikę CRISPR/Cas9 dla otrzymania modelu opartego na komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w których dokonano heterologicznej ekspresji genów kodujących hVDAC1, hVDAC2 i hVDAC3 (hVDAC3 także w wariantcie pozbawionym reszt cysteiny - hVDAC3ΔCys) w warunkach nieobecności genów kodujących yVDAC1 i yVDAC2 oraz usunięto geny kodujące SOD1 i SOD2.

Uzyskane wyniki wskazują, że: (1) rsVDAC może być jedynym wariantem VDAC w mitochondriach, a jego obecność może korelować z warunkami siedliskowymi, ponieważ rsVDAC wydaje się być powszechny u pasożytów, co z kolei sugeruje, że kanał ten może pośredniczyć w wykrywaniu i adaptacji do warunków środowiskowych; (2) genotyp komórek drożdży *S. cerevisiae* może mieć istotne znaczenie dla ich wykorzystania w badaniach hVDAC, w tym szczególnie hVDAC3, ze względu na jego wpływ na wewnątrzkomórkowy stan redoks i (3) hVDAC3 może chronić komórkę w warunkach stresu oksydacyjnego w sposób nie wymagający obecności dysmutaz ponadtlenkowych i sprowadzający się do uruchomienia swoistego stanu bioenergetycznego mitochondriów związanego z intensywną syntezą ATP, co z kolei wymaga obecności w tym białku reszt cysteiny. Wyniki te poszerzają wiedzę na temat rozpowszechnienia występowania rsVDAC w mitochondriach zwierząt oraz swoistej roli hVDAC3 w warunkach stresu oksydacyjnego.