

Proteinet sirtuin 1 i modellväxten *A. thaliana* väcker frågor som idag saknar svar

Therese Jonsson

Proteiner är livets byggstenar och behövs för att bygga upp kroppens celler och bilda både hormoner och enzymer. Sirtuin (Sir2-proteiner) är en klass av proteiner som finns i alla levande organismer, från bakterier till människor. Sirtuiner deacetylerar proteiner, tar bort en acetylgrupp, vid bindningen av substratet NAD^+ vilket skapar en proteinmodifiering som har en viktig funktion i många cellulära processer. För cirka tre decennier sedan upptäckte forskare funktionen av sirtuin i jästsvampen *Saccharomyces cerevisiae*. Denna jästsvamp är den vanligaste jästsvampen och används i både bakning och ölbrygging och innehåller fem olika sirtuiner. Forskare kunde se att när de slog ut funktionen av ett av dessa proteiner minskade jästens livslängd medan ett överuttryck av samma protein ledde till att jästen levde längre. Sedan dess har sirtuiner studerats i allt fler organismer och fler funktioner av dessa proteiner har definierats. Sirtuiner i bakterier och arkéer har visat sig vara involverade i metabolism, förtryckandet av mutationer och i regleringen av bildandet av nya proteiner. När forskare studerade funktionen av sirtuin i rundmasken *Caenorhabditis elegans*, bananflugan *Drosophila melanogaster* och möss, såg de att när sirtuin saknades minskade livslängden drastiskt. Mössen som studerades av en grupp forskare i USA hade avsaknad av sirtuin och drog på sig flertalet sjukdomar kopplade till åldrande och även reparationen av DNA avtog kraftigt. Däggdjur har sju olika sirtuiner (SIRT1-SIRT7), och alla dessa har visat sig spela en roll i cellens utveckling och livsupprätthållande system så som metabolism, DNA reparation, programmerad celledöd och stressresistans. Mycket lite kunskap finns om sirtuiners roll i växter och framförallt saknas vetskapen om dessa proteiner i modellväxten *Arabidopsis thaliana*, backtrav. *Arabidopsis thaliana* innehåller två sirtuiner, SRT1 vars funktion är okänd och SRT2 som har en viktig funktion i energimetabolismen.

I detta arbete studerades funktionen av SRT1 i *A. thaliana* med hjälp av fysiologiska och genetiska metoder. Preliminära resultat ifrån studier av SRT1 visar att brist på proteinet i växten gör att pollen dör. Detta fenomen studerades genom att färga in pollen från *A. thaliana* plantor som har en defekt i produktionen av SRT1. Den enda fysiologiska skillnaden mellan plantor med normalt SRT1 och plantor med defekt SRT1 är en ackumulering av dött pollen när SRT1 inte uttrycks normalt.

Sirtuiner finns i alla organismgrupper och har en evolutionärt konserverad region som är gemensam för alla sirtuiner. Homolog modellering utgår ifrån redan kända proteinsstrukturer för att skapa en modell av proteiner med okänd struktur. En sådan modellering gjordes för SRT1 och resultatet visar en stor sannolikhet att stämma överens med proteinets verkliga struktur. Modellen av SRT1 tillsammans med studier gjorda hos andra sirtuiner användes för att upptäcka aminosyror som är kopplade till deacetylering. Jämförelsen resulterade i två aminosyror, fenylalanin 64 och histidin 134, som med hög sannolikhet är involverade i SRT1 funktion att deacetylera proteiner. Med hjälp av en metod som kallas för mutagenes, ersattes fenylalanin 64 och histidin 134 till en annan aminosyra, nämligen alanin respektive tyrosin. Aminosyror har olika egenskaper och utbytet av en aminosyra kan därför ändra proteinets aktivitet genom att exempelvis hindra inbindningen av substratet NAD^+ . I fortsatta studier är målet att uttrycka det alternerade SRT1 proteinet och kunna mäta proteinets funktion att deacetylera proteiner. Idag är vetskapen om sirtuiners funktion i *A. thaliana* begränsad och fler studier inom ämnet behövs.

Degree project in Biology, Master of Science (2 years), 2016

Examensarbete i biologi 45 hp till mastersexamen, Uppsala Universitet, 2016

Swedish University of Agricultural Sciences, department of Chemistry and Biotechnology

Supervisor: *Alyona Minina*