

ANALISIS IN-SILICO PROTEIN DnaJ *Bacillus stearothermophilus*

Maureen Kumaunang¹ Vanda S. Kamu¹ dan Yohanis I. Mandik²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sam Ratulangi, Manado

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima 15-03-2009; Diterima setelah direvisi 27-03-2009; Disetujui 01-04-2009

ABSTRACT

Kumaunang, M et al., 2009. In-Silico Analysis of DnaJ Protein from *Bacillus stearothermophilus*.

DnaJ is a chaperone which has function in facilitating folding, translocation, and degradation of protein. The aim of this research was to undertake *in silico* study of DnaJ protein from *Bacillus stearothermophilus*. Structure analysis of DnaJ *B. stearothermophilus* showed that it has J-domain which has two conserved motifs, i.e. HPD and QKRA motifs. It also has cys-rich domain which has one conserved motif, i.e. CXXCXGXG. Structure prediction of DnaJ *B. stearothermophilus* showed that it has similar structure of J-domain and cys-rich domain with that of DnaJ *Escherichia coli*.

Keywords : DnaJ, chaperone, *in-silico*, *Bacillus stearothermophilus*

PENDAHULUAN

Chaperone adalah kelompok protein yang membantu proses pelipatan polipeptida membentuk struktur tersier dan kuarternier. *Chaperone* juga berperan dalam translokasi protein melewati membran intraseluler serta memfasilitasi degradasi proteolitik dari protein yang tidak stabil (Hartl, 1996).

DnaJ adalah *chaperone* anggota keluarga protein-J. DnaJ adalah homolog Hsp40 *E. coli* yang berperan penting sebagai *co-chaperone* dalam sistem DnaK. DnaJ dibutuhkan dalam berbagai proses seluler termasuk pelipatan, translokasi, dan degradasi protein. Sebagai bagian dari sistem *chaperone* DnaK, DnaJ berinteraksi secara langsung dengan substrat protein, mentransfer substrat tersebut ke DnaK dan berperan menstimulasi aktivitas ATPase DnaK yang menyebabkan DnaK dapat mencapai keadaan afinitas tinggi untuk berikatan dengan molekul substrat. DnaJ juga memiliki aktivitas *chaperone in vitro* sebagai holdase, di mana DnaJ mampu mengenal protein non-natif dan mencegah molekul protein tersebut mengalami agregasi (Langer *et al.*, 1992; Han and Christen, 2003).

Domain *cys-rich* pada DnaJ *E. coli* memiliki motif -CXXCXGXG-. Motif CXXC merupakan motif lestari pada sisi aktif berbagai protein disulfida oksidoreduktase, yaitu tioredoxin, Protein Disulfida Isomerase (PDI), dan DsbA. Adanya motif CXXC pada DnaJ *E. coli*

menyebabkan DnaJ mempunyai aktivitas oksidasi reduksi dalam sel (Crouy-Chanel, 1995).

Urutan nukleotida pengkode DnaJ *B. stearothermophilus* telah disekuens dan merupakan bagian dari operon DnaK serta telah didaftarkan dalam *Genebank* dengan *Accession number* X90709.1 (Herbort *et al.*, 1996). Protein DnaJ *B. stearothermophilus* memiliki kode akses *SwissProt* Q45552. Dari empat domain yang umum dimiliki DnaJ, telah berhasil ditentukan struktur untuk domain-J dari DnaJ *E. coli* (Hill *et al.*, 1995), HDJ1 manusia (Qian *et al.*, 1996), serta domain *cys-rich* dari DnaJ *E. coli* (Martinez-Yamout *et al.*, 2000), sedangkan struktur DnaJ secara keseluruhan belum ditentukan. Oleh karena itu, struktur domain-J dan domain *cys-rich* dari DnaJ Q45552 akan dipelajari secara *in silico* berdasarkan struktur model yang telah ada dalam *Protein Data Bank* serta akan dibandingkan dengan struktur DnaJ *E. coli*. Studi struktur protein sangat dibutuhkan untuk mempelajari fungsi dan stabilitas suatu protein. Studi struktur protein dapat dilakukan secara *in silico* sebagai studi pendahuluan hubungan struktur, fungsi, dan stabilitas suatu protein (Radford and Dobson, 1999).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Analisis *in silico* terhadap protein DnaJ *B. stearothermophilus* dilakukan dengan menggunakan piranti lunak yang terdapat dalam situs <http://ncbi.nlm.nih.gov>, www.expasy.org, program DNASTar, dan Geno3D (Combet *et al.*, 2002), sedangkan untuk tampilan struktur digunakan program Yasara (<http://www.YASARA.org>)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis struktur DnaJ *B. stearothermophilus* dilakukan dengan mengamati domain serta motif lestari yang dimilikinya. Domain lestari dari struktur DnaJ dianalisis dengan menggunakan *Conserved Domain Search* NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov/structure/cdd/cddsrv>). DnaJ (bagian yang berwarna abu-abu) memiliki tiga domain, yaitu domain-J (bagian berwarna merah), domain *cys-rich* (bagian berwarna hijau), serta domain C-terminal (bagian berwarna biru).



Gambar 1. Daerah lestari DnaJ dengan menggunakan fasilitas *Conserved Domain Search* dari NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov/structure/cdd/cddsrv>)

Analisis selanjutnya dilakukan untuk mencari ikatan disulfida yang ada dalam struktur DnaJ. Analisis ini perlu dilakukan karena kelompok DnaJ memiliki aktivitas oksidoreduktase dalam sel. Prediksi dilakukan dengan menggunakan program *DISULFIND* yang tersedia dalam *Prosite* (<http://www.expasy.org/tools/scanprosite>). DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552 memiliki 4 ikatan disulfida, yaitu antara C148–C151, C165–C168, C191–C194, dan C205–C208 (Gambar 2). DnaJ

E. coli (P08622) juga memiliki empat ikatan disulfida yaitu antara C144–C147, C161–C164, C183–C186, dan C197–C200 (Martinez-Yamout *et al.*, 2000). Keempat ikatan disulfida ini membentuk domain pengikatan Zn^{2+} , yang memiliki motif -CXXCXGXG-. DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552 memiliki motif -CXXCXGXG-, yang diperlihatkan dalam kotak A, B, C, dan D (Gambar 2). Pengikatan Zn^{2+} diperkirakan terjadi antara motif A – D serta antara B – C.



Gambar 2. Prediksi ikatan disulfida dalam DnaJ (a) *B. stearothermophilus* Q45552; ()

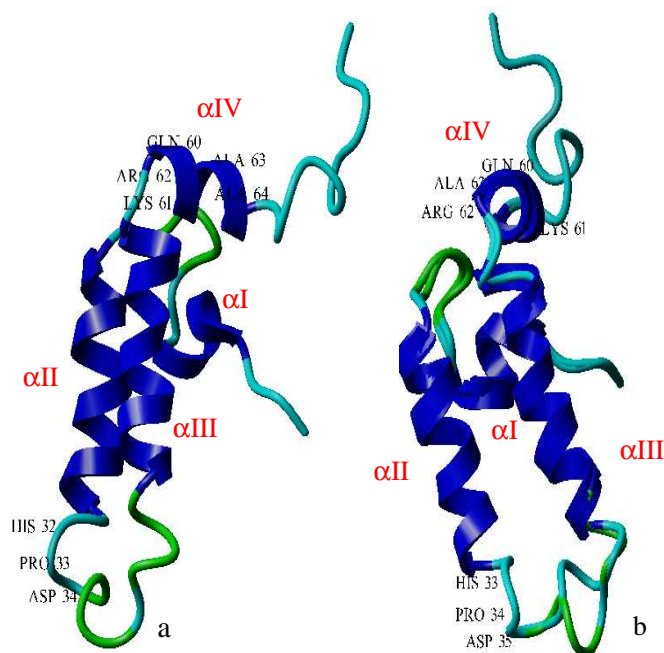
Oleh karena struktur DnaJ secara lengkap belum ditentukan, maka prediksi yang dapat dilakukan hanya terhadap domain-J serta domain

cys-rich. Hasil analisis terhadap protein DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552, ditemukan dua motif lestari untuk DnaJ pada domain-J (Gambar 3) serta satu motif lestari pada domain *cys-rich*

(Gambar 4). Motif yang pertama dalam domain-J adalah urutan asam amino His-Pro-Asp (motif HPD), sedangkan motif kedua adalah Gln-Lys-Arg-Ala (motif QKRA). Motif HPD sangat lestari untuk keluarga protein-J. Motif ini berperan dalam interaksi antara domain-J dari DnaJ dengan domain ATPase dari DnaK (Greene *et al.*, 1998). Sedangkan motif QKRAA berperan dalam interaksi antara DnaJ dengan domain pengikatan substrat pada DnaK (Suh *et al.*, 1995; Auger and Roudier, 1997). Dalam domain *cys-rich* DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552 ditemukan dua motif pengikatan Zn^{2+} , yaitu -CXXCXGXG-. Motif pengikatan Zn ini berperan dalam pengikatan protein *unfolded*, mencegah agregasi protein non-natif (Szabo *et al.*, 1996), serta residu sistein

dalam domain ini berperan dalam aktivitas tiol-disulfidaoksidoreduktase DnaJ (Shi *et al.*, 2005).

Domain-J DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552 (Gambar 3b) tersusun oleh 4 struktur α -heliks yang menyerupai struktur domain-J *E. coli* P08622 (PDB ID: 1BQZ; Hill *et al.*, 1995). α I terdiri dari Asp5 sampai Gly11. α II tersusun oleh Lys 18 sampai Lys31. α III tersusun oleh Ala42 sampai Glu 54. α IV tersusun oleh Asp59 sampai Asp66. Motif HPD terletak di antara α II dengan α III sedangkan motif QKRAA pada α IV. Prediksi struktur domain-J DnaJ *B. stearothermophilus* menunjukkan kemiripan dengan struktur domain-J DnaJ *E. coli*.



Gambar 3. Prediksi struktur domain-J DnaJ. a) DnaJ *E. coli* (P08622); b) DnaJ *B. stearothermophilus* (Q45552). Pita biru tua menunjukkan untai α -heliks. Analisis struktur menggunakan program Geno3D (Combet *et al.*, 2002), sedangkan untuk tampilan struktur digunakan program Yasara (<http://www.YASARA.org>).

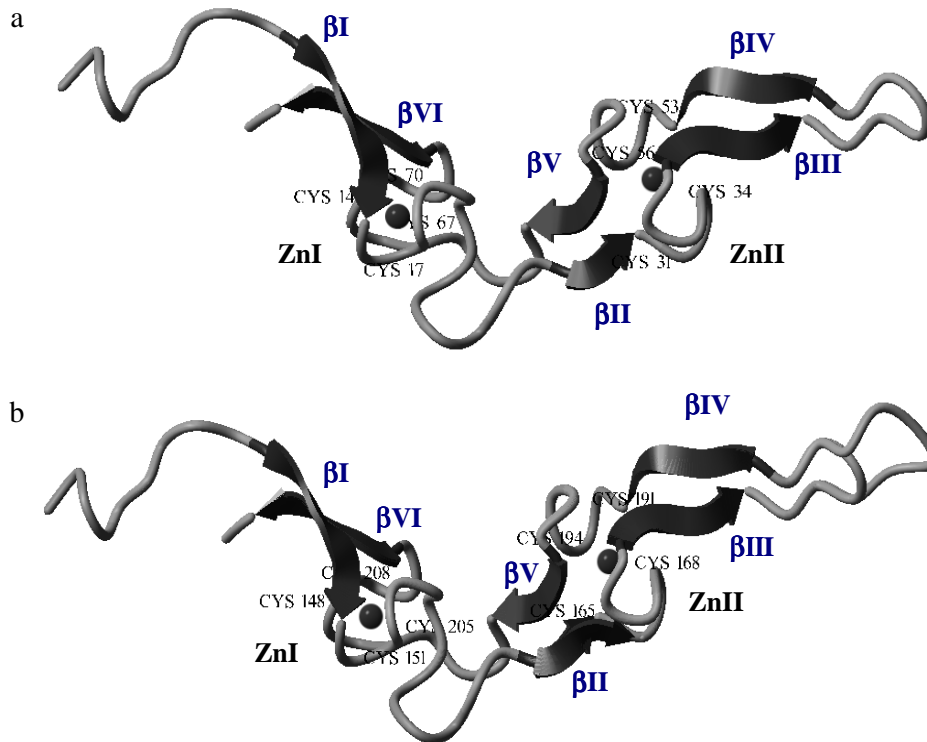
Domain *cys-rich* DnaJ *B. stearothermophilus* Q45552 memiliki empat motif berulang -CXXCXGXG- yang menyusun dua motif pengikatan Zn^{2+} (Gambar 4b). Domain *cys-rich* ini terbentuk oleh 6 untai β (Gambar 4b). Untai β 1 dimulai dari residu Ser144 sampai Cys148. Untai β 1 paralel dengan untai β 6 yang terdiri dari residu Gly212 sampai Lys215. Untai β 2 yang tersusun dari residu Glu163 sampai Cys165 paralel dengan untai β 5 yang tersusun

dari residu Gly198 sampai Tyr200. Sedangkan untai β 3 yang terdiri dari residu Gly172 sampai Ser175 paralel dengan untai β 4 yang terdiri dari Asn187 sampai Thr190.

Keempat motif pengikatan Zn ini membentuk domain pengikatan dua ion Zn^{2+} , di mana motif I dan IV membentuk motif pengikatan ZnI sedangkan motif II dan III berinteraksi membentuk motif pengikatan ZnII. Interaksi antara keempat motif ini membuat struktur DnaJ

berbentuk seperti huruf “V”, dengan kedua motif pengikatan ZnI dan ZnII menyusun masing-masing sayap dari huruf “V” (Martinez-Yamout *et*

al., 2000). Model struktur seperti huruf “V” ini menunjukkan kemiripan dengan domain *cys-rich* DnaJ *E. coli* (Gambar 4a).



Gambar 4. Prediksi struktur domain *cys-rich* DnaJ. a) DnaJ *E. coli* (P08622, PDB ID: 1EXK); b). DnaJ *B. stearothermophilus* (Q45552); c). DnaJ *G. kaustophilus* (Q5KWZ8).

Pita merah menunjukkan untai- β . Atom Zn berbentuk bola berwarna ungu. Analisis struktur menggunakan program Geno3D (Combet *et al.*, 2002), sedangkan untuk tampilan struktur digunakan program Yasara (<http://www.YASARA.org>).

KESIMPULAN

DnaJ *B. stearothermophilus* memiliki motif lestari HPD dan QKRA pada domain-J, serta motif CXXCXGXG pada domain *cys-rich*. Prediksi struktur DnaJ *B. stearothermophilus* menunjukkan kemiripan dengan struktur domain-J dan domain *cys-rich* DnaJ *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

Auger, I., Roudier, J., (1997), A function for the QKRAA amino acid motif: mediating binding of DnaJ to DnaK, *J Clin Invest*, 99, 1818-1822.

Combet, C., Jambon, M., Deleage, G., Geourjon, C. (2002), Geno3D, *Bioinformatics*, 18, 213-217.

Crouy-Chanel, A., Kohiyama, M., Richarme, G. (1995), A novel function of *Escherichia coli* chaperone DnaJ, *J Biol Chem*, 270, 22669-22672.

Greene, M.K., Maskos, K., Landry, S.J. (1998), Role of the J-domain in the cooperation of Hsp40 with Hsp70, *Proc Natl Acad Sci*, 95, 6108-6113.

Han, W., Christen, P. (2003), Mechanism of targeting action of DnaJ in the DnaK molecular chaperone system, 278, 19038-19047.

Hartl, F.U. (1996), Molecular chaperones in cellular protein folding, *Nature*, 381, 571-579.

Herbort, M., Schön, U., Angermann, K., Lang, J., Schumann, W. (1996), Cloning and sequencing of the *dnaK* operon of *Bacillus stearothermophilus*, *Gene*, 170, 81-84.

Hill, R.B., Flanagan, J.M., Prestegard, J.H. (1995), ^1H and ^{15}N magnetic resonance assignments, secondary structure, and tertiary fold of *Escherichia coli* DnaJ (1-78), *Biochemistry*, 34, 5587-5596.

- Langer, T., Lu, C., Echols, H., Flanagan, J., Hayer, M.K., Hartl, F.U. (1992), Successive action of DnaK, DnaJ, and GroEL along the pathway of chaperone-mediated protein folding, *Nature*, 356, 683-689.
- Martinez-Yamout, M., Legge, G.B., Zhang, O., Wright, P.E., Dyson, H.J. (2000), Solution structure of the cysteine-rich domain of the *Escherichia coli* chaperone protein DnaJ, *J Mol Biol*, 300, 805-814.
- Qian, Y.Q., Patel, D., Hartl, F.U., McColl, D.J. (1996), Nuclear magnetic resonance solution structure of the human Hsp40 (HDJ-1) J-domain, *J Mol Biol*, 260, 224-235.
- Radford, S.E., Dobson, C.M. (1999), From computer simulations to human disease: emerging themes in protein folding, *Cell*, 97, 291-296.
- Shi, Y.Y., Tang, W., Hao, S.F., Wang, C.C. (2005), Contributions of cysteine residues in Zn²⁺ to Zinc Fingers and Thiol-Disulfide Oxidoreductase Activities of Chaperone DnaJ, *Biochemistry*, 44, 1683-1688.
- Suh, W.C., Burkholder, W.F., Lu, C.Z., Zhao, X., Gottesman, M.E., Gross, C.A. (1995), Interaction of the Hsp70 molecular chaperone, DnaK, with its cochaperone DnaJ, *Proc Natl Acad Sci*, 95, 15223-15228.
- Szabo, A., Korszun, R., Hartl, F.U., Flanagan, J. (1996), A zinc finger-like domain of the molecular chaperone DnaJ is involved in binding to denatured protein substrates, *EMBO J*, 15, 408-417.