

ACADEMIA biologia

CIEMNA CZĘŚĆ

Niestuszenie uważane za białkowe odpady, a tak naprawdę nieprzebadane ze względu na brak narzędzi. Co dziś wiemy o białkach nieglobularnych?

ACADEMIA: Czym wyróżniają się białka nieglobularne i w jaki sposób można je badać?

MARCIN GRYNBERG: Białka globularne są długimi cząsteczkami, które układają się w przestrzeni w określony sposób – mają tendencję do zwijania się w kłęski. Białka nieglobularne natomiast nie tworzą takiej struktury i można je sobie wyobrazić jako niteczki wolno pływające wewnątrz komórki. Tradycyjne podejście do badania białek wymaga uzyskania kryształu zrobionego z dużej ilości konkretnego białka, który zasadniczo daje się wyhodować tylko w przypadku białek o regularnej strukturze (globularnych). W przypadku białek nieglobularnych jest to prawie niemożliwe, a co najmniej niezwykle trudne.

Ciekawą cechą białek nieglobularnych jest to, że ich sekwencje – układ aminokwasów, czyli cegiełek, z których są zbudowane – bywa zupełnie inny niż w białkach globularnych. Ta ich właściwość, w połączeniu z trudnościami w obrazowaniu, sprawiła, że przez dziesięciolecia niechętnie się nimi zajmowano. **ALEKSANDRA GRUCA:** Temat ten odsuwano także dlatego, że na początku wydawało się, iż fragmenty białek tworzące te niteczki nie są istotne. Uważano je za rodzaj śmieci, teraz natomiast mówi się o *dark proteome*, czyli ciemnej części świata białek, która nie została do dzisiaj dobrze przebadana, bo nie było do tego narzędzi i nie przywiązywano do niej wagi.

Używają państwo czasu przeszłego – co się więc zmieniło, że obecnie można te białka zbadać?

M.G.: Próbowano je badać od dawna, ale z niewielkim sukcesem. Metody krystalograficzne, o których mówi-

dr hab. inż. Aleksandra Gruca

Informatyczka, bioinformatyczka zatrudniona w Instytucie Informatyki Politechnik Śląskiej, członkini zarządu Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego. Zajmuje się wykorzystaniem metod maszynowego uczenia i sztucznej inteligencji w biologii obliczeniowej oraz medycynie. Pracuje również nad rozwojem algorytmów analizy sekwencji białek w celu zrozumienia oraz przewidywania ich funkcji.

aleksandra.gruca@polsl.pl

dr hab. Marcin Grynberg

Biolog zatrudniony w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN. Zajmuje się biologią teoretyczną w celu zrozumienia procesów biologicznych. Pracuje nad rozwikłaniem zagadek budowy białek oraz specyficznymi badaniami białka bakterii patogennych i mlekowych.

greenb@ibb.waw.pl

BADANIA W TOKU

DR HAB. INŻ. ALEKSANDRA GRUCA, DR HAB. MARCIN GRYNBERG

ŚWIATA BIAŁEK



łem, próbując zobaczyć białko w stanie pewnego „zamrożenia”. To tak, jakbym szedł ulicą, nagle zamarł i tak został, a badacz by zrobił zdjęcie i powiedział: „O, pan Marcin wygląda tak”. I to jest prawda, ale też mogę wyglądać na setki innych sposobów. Problem w tym, że metody krystalograficzne nie pozwalają zobaczyć fragmentów białka, które są ruchome.

Z kolei NMR, czyli spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego, pozwala zobaczyć ruchome obiekty, ale nie można jej zastosować do bardzo dużych cząsteczek. Badane były tylko króciutkie białka. Powstawał więc problem, jak taki mały fragment umieścić w kontekście większej struktury.

Kolejnym powodem trudności w badaniu był skład białek nieglobularnych. Białka globularne zbudowane są z 20 aminokwasów i właściwie wszystkie z nich, z pewną częstością, można w „normalnym” białku znaleźć. Z kolei w białkach nieglobularnych często występują fragmenty o dużo uboższym składzie, zbudowane tylko z trzech czy pięciu powtarzających się aminokwasów. Takie obszary nazywamy niskozłożonymi. Analiza takich fragmentów jest trudna z matematycznego punktu widzenia, bo mamy wtedy mało

mórcze do drugiego lub w przechodzeniu z fazy płynnej do stałej. Służą też często wiązaniu danego białka do innego lub do jakiejś innej struktury w komórce. Znanych jest też trochę innych funkcji, ale nadal to krople w morzu.

A.G.: Niektóre z tych białek, kiedy są pojedynczymi niteczkami, to zachowują się w porządku i są niegroźne, ale kiedy się połączą, mogą tworzyć struktury niebezpieczne dla organizmu.

M.G.: Właśnie tak, białko może wyjść z roztworu i stworzyć polimer, np. jak konkretne białka w niektórych nowotworach. Ale białka nieglobularne mogą też mieć inne funkcje. Wiele uczestniczy w wiązaniu innych białek czy też cząsteczek przekazujących sygnały. Prace z ostatnich 10 lat pokazują, że mogą uczestniczyć w tworzeniu nowych funkcji. Ponieważ białka czy fragmenty białek niskozłożonych pojawiają się w bardzo wielu organizmach, można dość łatwo przeszedź ich losy. Okazuje się, że zdarza się takim niskozłożonym fragmentom ewoluować szybciej niż innym fragmentom białek, aż do utworzenia nowych możliwości, np. bycia enzymem, który spełnia jakąś nową funkcję.

A.G.: To, że te białka mają niezdefiniowaną strukturę, powoduje, że jest im łatwiej się spotkać z innymi białkami i coś nowego z nimi stworzyć. Możemy to sobie wyobrazić następująco: jak ktoś jest sztywny, zwinięty w kłębek, to trudniej mu z innymi osobami wejść w interakcje, a jak ktoś macha łapkami dookoła, to rosną szanse, że przez przypadek kogoś złapie.

M.G.: Albo nawet bez przypadku.

Zorganizowali państwo niedawno spotkanie, hackaton, w ramach konsorcjum COST.

A.G.: COST, Cooperation in Science and Technology, jest najstarszym europejskim programem naukowym finansującym spotkania naukowców różnych krajów zainteresowanych tą samą tematyką badawczą. Obecnie obejmuje on 36 członkowskich krajów Unii Europejskiej oraz krajów współpracujących.

M.G.: Nasze konsorcjum nazywa się NGP-net i trafiłszy do niego przez Silvia Tosatto, jego pomysłodawcę z Uniwersytetu w Padwie. Silvio szukał współpracowników w Europie i zwrócił się do mojej koleżanki Ani Gambin, profesor z Wydziału Matematyki, Informatyki i Mechaniki UW. Ona niezbyt chciała się angażować ze względu na brak czasu, ale wskazała mnie, a ja później znalazłem Olę. Trochę przez przypadek, ponieważ najpierw trafiłem na program napisany przez Olę, który tak mnie zainteresował, że pozwoliłem sobie zwrócić się do niej o pomoc, współpracę i na szczęście była zainteresowana.

Jak matematyka, informatyka, czyli modelowanie, są w stanie pomóc w badaniach białek?

A.G.: Co najmniej połowa uczestników NGP-net to bioinformatycy, czyli ludzie, którzy zajmują się tymi białkami, nie zaglądając do laboratorium. Siedzimy

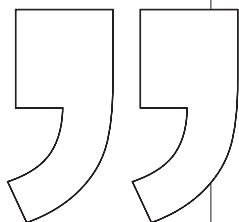
Niektóre z białek, kiedy są pojedynczymi niteczkami, są niegroźne, ale kiedy się połączą, mogą tworzyć struktury niebezpieczne dla organizmu.

informacji. Chociaż to brzmi absurdalnie, właśnie tak jest: jeśli jakiś fragment się powtarza, jest mało informacji, tym trudniej to zbadać matematycznie.

A.G.: Muszę tu dodać, że modele statystyczne, które pozwalają analizować podobieństwo pomiędzy sekwencjami białek, co umożliwia na przykład odtworzenie struktury białek na podstawie tego podobieństwa, opracowano dla fragmentów, które mają wszystkie 20 aminokwasów. Modele te są używane od ponad 30 lat, ale w żaden sposób nie nadają się do fragmentów niskozłożonych. Ponieważ nie było narzędzi do analizy takich fragmentów, wcześniej po prostu usuwano je z analizy, skupiając się na fragmencie białek zawierających wszystkie aminokwasy.

Czy wiadomo, jakie funkcje pełnią białka nieglobularne, czy niskozłożone?

M.G.: Wiele z tych białek, dzięki swojej nietypowej sekwencji i strukturze, uczestniczy w przeprowadzaniu innych białek z jednego kompartmentu w ko-



DR HAB. INŻ. ALEKSANDRA GRUCA, DR HAB. MARCIN GRYNBERG

przed komputerami, patrzymy na struktury, sekwencje i próbujemy zrozumieć, jak to wszystko działa.

Klasyczny hackathon polega na tym, żeby w kilka dni wyprodukować jakieś oprogramowanie lub jego prototyp. A jak wyglądał białkowy hackathon zorganizowany w lutym?

M.G.: Nasze spotkanie było krótkie, więc skoncentrowaliśmy się na tym, żeby zaplanować, jak ten produkt ma wyglądać. W ramach NGP-net udało się nam opublikować artykuł, który dotyczy narzędzi i nazewnictwa związanego z tematyką. Okazało się bowiem, że istnieje problem z definicjami i trzeba to uporządkować.

Ola i ja w ramach NGP-net zajmujemy się fragmentami niskozłożonymi. Istnieje wiele sposobów ich poszukiwania i w trakcie hackathonu ustaliliśmy, że dobrze byłoby stworzyć narzędzie umożliwiające porównanie tych metod i uzyskanych dzięki nim wyników. W ciągu spotkania stworzyliśmy więc specyfikację takiego oprogramowania, ustaliliśmy, co powinno się w nim znajdować i w jaki sposób chcemy podejść do problemu.

Za całość projektu odpowiada Ola. Rozplanowaliśmy sobie działania w czasie i teraz każdy uczestnik wie, jakie zadanie do niego należy, kiedy ma je zakończyć i przekazać dane kolejnej osobie. Tak więc w jedno popołudnie i jedno przedpołudnie udało się zaprojektować całość.

Uczestnicy hackatonu pojechali do domu pracować nad swoją cegiełką, którą dołożą do projektu?

M.G.: Właśnie tak. Spotkanie trwało dwa i pół dnia. Najpierw każdy wygłosił 15-minutową prezentację na temat swoich badań, potem odbył się hackaton, a później zajęliśmy się lepszym dookreśleniem, czym są poszczególne nieglobularne sekwencje białkowe. Rano następnego dnia doprecyzowaliśmy pomysły na następne prace. Udało się nam nawet przedyskutować możliwości finansowania naszej współpracy w przyszłości – tyle wycisnęliśmy ze spotkania trwającego dwa i pół dnia.

Muszę przyznać, że zrobiło to na mnie wielkie wrażenie i dzięki spotkaniu powstało mnóstwo pomysłów. Mamy ogromną listę rzeczy do zrobienia, otworzyliśmy worek bez dna, ale w pozytywnym sensie. Każdy z uczestników zajmuje się trochę czymś innym i dzięki temu fantastycznie się dopełniamy.

Nawet w świecie Internetu trudno przecenić rolę bezpośredniego spotkania.

A.G.: Tak. Można się komunikować na wiele sposobów i z Marcinem dużo współpracujemy zdalnie. Zdara się, że nawet rok się nie widzimy w tak zwanym realu, ale czasem trzeba się spotkać osobiście i porozmawiać. Nasze konsorcjum jest bardzo interdyscyplinarne. Chociaż wszyscy zajmujemy się fragmentami

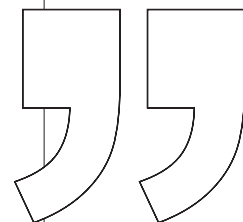
niskozłożonymi, byli informatycy, biolodzy, każdy patrzy na problem pod innym kątem, co daje bardzo dobre efekty.

Co dalej? Jak państwo widzą przyszłość tego projektu? Czy bardziej będą się państwo skupiać na funkcjach, czy może na zastosowaniach tych białek?

M.G.: To dość złożona sprawa, bo w nauce są mody. Obecnie trwa moda na analizę RNA i osoby, które się zajmują RNA, dostają wielkie granty. Może więc kiedyś przyjdzie czas nie tylko na sekwencje o niskiej złożoności, ale w ogóle na sekwencje nieglobularne. Są ku temu powody – po pierwsze, stanowią one 15% proteomu, czyli wszystkich białek obecnych w komórce, a po drugie, jest to jeszcze dziewicze pole.

Na razie jesteśmy więc bardzo daleko od aplikacji, badamy zupełnie nieznanne tereny. Mamy bardzo niewiele prac z przeszłości, na których możemy bazować, żadnych konkretnych danych, dzięki którym moglibyśmy zbadać, czy nasze przypuszczenia są prawdziwe lub nie. Po prostu nikt wcześniej się tym tematem nie zajmował.

Każdy z uczestników hackatonu zajmuje się trochę czymś innym i dzięki temu fantastycznie się dopełniamy.



Odkrywają państwo nieznanne lądy.

M.G.: Myślę, że także dla naszych studentów bardzo inspirująca jest myśl, że otwierają drzwi, których nikt jeszcze nie otworzył. Tym bardziej jesteśmy wdzięczni ludziom, którzy pierwsze szlaki już prze-tarli. Należą do nich np. nasi partnerzy z Uniwersytetu Jana Gutenberga w Moguncji w Niemczech, którzy zajęli się sekwencjami homogennymi, czyli złożonymi z jednego aminokwasu. Są także badania poszczególnych fragmentów o niskiej złożoności czy prace dotyczące pewnych konkretnych białek. Nie ma natomiast badań globalnych, którymi się teraz z Olą zajmujemy.

A.G.: Jeszcze nie ma, ale chcemy je stworzyć – dlatego w tym temacie walczymy.

Z DR HAB. INŻ. ALEKSANDRĄ GRUCĄ
 I DR. HAB. MARCINEM GRYNBERGIEM
 ROZMAWIAŁA DR AGNIESZKA KLOCH
 ZDJĘCIE JAKUB OSTAŁOWSKI