

Tajemnice rusztowań

MAGDALENA RICHTER

Środowiskowe Laboratorium Spektrometrii Mas, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

Wydział Genetyki, Uniwersytet Cambridge, Wielka Brytania
mmr46@cam.ac.uk

Magdalena Richter realizuje projekt w programie „Międzynarodowe Studia Doktoranckie w zakresie biologii molekularnej: DNA, RNA i białka – od badań podstawowych do aplikacyjnych”. W konkursie FameLab zajęła II miejsce.

Prawidłowy rozdział materiału genetycznego jest podstawą procesu dziedziczenia. Aby doszło do bezproblemowej segregacji chromosomów w trakcie podziału komórki, mikrotubule wrzeciona mitotycznego muszą przyłączyć się do chromosomów w rejonie centromeru. Jest to możliwe dzięki obecności kinetochorów.

Te wielocząsteczkowe rusztowania pomimo ogromnego stopnia złożoności (kinetochory komórek ludzkich składają się z ponad stu różnych białek) są wysoce konserwowane pod względem funkcji i struktury. Nawet drobne błędy w ich funkcjonowaniu mogą doprowadzić do tragicznych skutków (np. niestabilności chromosomalnej mogącej wpłynąć na wytworzenie nowotworu, czy apoptozy). Dlatego poddawane są drobiazgowej analizie przez rzeszę naukowców na całym świecie. Najważniejsze pytania to: jak zbudowany jest kinetochor (jakie białka go tworzą, jakie są zależności i oddziaływania między nimi) oraz w jaki sposób proces jego składania jest regulowany.

Tematem mojego projektu doktoranckiego jest analiza jednego z elementów tego skomplikowanego rusztowania – białka CENP-C. Jest ono kluczowe dla całego procesu składania kinetochoru w mitozie, gdyż stanowi swoisty most łączący go z centromerem. Głównym moim celem jest więc zdobycie informacji na temat jego struktury, modyfikacji potranslacyjnych oraz oddziaływań z innymi białkami.

Aktualnie w badaniach kinetochorów dominują dwa trendy. Jeden, komórkowy, pozwala uwidocznić za pomocą fluorescencyjnych barwników poszczególne białka tych struktur oraz śledzić ich losy w żywych komórkach. Drugi, strukturalny, dzięki wykorzystaniu krytalografii

oraz tradycyjnych metod biochemicznych umożliwia analizę kształtu, wyglądu i oddziaływań grup białek tworzących podjednostki kinetochoru. Realizowany przeze mnie projekt skupia się na podejściu strukturalnym, ale zamiast klasycznych prób krytalograficznych wykorzystuję w nim spektrometrię mas, a dokładniej HDX-MS (Hydrogen Deuterium eXchange Mass Spectrometry). Ta metoda jest szeroko stosowana w analizach proteomicznych, ale wciąż niewiele osób wykorzystuje ją w badaniach oddziaływań białko-białko. Mimo że rozdzielczość metody HDX-MS nie dorównuje klasycznej krytalografii, to ma ona wiele zalet. Po pierwsze, jest szybka i nie wymaga dużych ilości materiału do badań, a po drugie, dzięki niej jesteśmy w stanie dość dokładnie ustalić rejony oddziaływań w kompleksach białkowych. Dodatkowo metoda ta może stanowić alternatywę dla badań krytalograficznych, w przypadku gdy białka lub kompleksy białek nie dają się wykrystalizować.

Wykorzystując tę niespotykaną w dziedzinie badań kinetochorowych metodę, mam nadzieję ustalić, jak dokładnie wygląda otoczenie białka CENP-C. Zlokalizowanie regionu, do którego wiążą się pozostałe elementy kinetochoru, będzie pierwszym krokiem na drodze do znalezienia odpowiedzi na pytanie, jak to wiązanie jest regulowane. Oczywiście, planując kolejne kroki, mam również zamiar wykorzystywać potencjał kryjący się w spektrometrii mas, ale tym razem być może uda się połączyć go z podejściem bardziej komórkowym. ■



fot. J. Krawiec