

Białko silniejsze od pajęczych sieci

Sieć dla Spidermana



MAREK CIEPLAK

Instytut Fizyki

Polska Akademia Nauk, Warszawa

mc@ifpan.edu.pl

Prof. dr hab. Marek Cieplak kieruje interdyscyplinarnym zespołem naukowców zajmujących się fizycznymi właściwościami białek i kwasów nukleinowych.

W laboratorium Instytutu Fizyki Polskiej Akademii Nauk odkryto, że dobrze znane białko może być superwytrzymałe pod względem mechanicznym, prawie dwukrotnie mocniejsze od pajęczych nici. Budulec w sam raz na sieci Spidermana

Parametry mechaniczne białka 1TFG zostaną zweryfikowane w ośrodkach doświadczalnych współpracujących z grupą z IF PAN. Jeśli zostaną potwierdzone, otwiera się droga do wielu zastosowań. Polimery z białka prawdopodobnie mogłyby się przydać nie tylko Spidermanowi, lecz także na przykład chirurgom jako opatrunki lub nici chirurgiczne.

Duże zmiany konformacyjne

Cała przygoda zaczęła się w 1999 roku. Zainteresowały mnie duże zmiany konformacyjne białek, np. takie zachodzące przy ich zwijaniu się. Co się dzieje, gdy białka są w stanie rozwiniętym, a potem usuwamy denaturat albo zmieniamy temperaturę do zwykłej pokojowej i rozwinięte białko staje się globularne? Żeby opisać zachodzące w białkach zmiany, zbudowaliśmy modele gruboziarniste. Białka są wytwarzane przez rybosomy jako długie, niezwinione łańcuchy aminokwasów. Po wyprodukowaniu w odpowiednich warunkach każdy łańcuch zwija się w kłębek. W ten sposób tworzy się struktura natywna, o kształcie charakterystycznym dla konkretnego białka. Istniały wprawdzie stosowane powszechnie w chemii teoretycznej programy komercyjne, takie jak Amber, Gromacs, Charm, są bardzo realistyczne, ale mają jeden mankament – nadają się tylko do badania krótkich skal czasowych. Sprawdzają się więc świetnie przy badaniu procesów natywnych czy zachodzących blisko stanu natywnego, ale nie do badania dużych zmian konformacyjnych, które mnie interesowały. Trzeba było uprościć model. Aminokwas jest w uproszczonym modelu reprezentowany przez jeden węgiel C-alfa. W najprostszej wersji przypisuje im się twarde rdzenie, żeby na siebie nie nachodziły. Oczywiście taki polimer z rdzeniem to jeszcze nie jest białko, więc należy

w analogiczny sposób wprowadzić oddziaływania między wybranymi aminokwasami. Przypisanie takich oddziaływań nazywa się określeniem mapy kontaktów – określenie który aminokwas oddziałuje z którym. Jeżeli wczytam strukturę i przypiszę im twarde rdzenie, to wówczas aminokwas będzie reprezentowany przez „kiść winogron”, każdy inny aminokwas również przez kiść winogron. Gdy kiście się przykrywają, to istnieje kontakt natywny, a jeśli się nie stykają, to nie ma kontaktu – jest tylko odpychanie. Dla zadanej mapy kontaktów istnieje mnóstwo potencjałów, które można kontaktom przypisać i znaleźć optymalne. W naszym modelu możemy badać białka, których struktury natywne są znane.

Wędki i szczypce

Pierwsze badania nad mechanicznym manipulowaniem białkami pojawiły się w 1997 roku w Monachium, gdzie w zespole Hermanna Gauba wizytował Julio Fernandez, dziś profesor na Columbia University. Idea jest taka, by coś do białka przyczepić i je schwycić. Używa się do tego mikroskopów sił atomowych lub szczypiec optycznych. Mamy w Instytucie jeden z takich mikroskopów. Połowa jego ceny to skaner z bardzo wrażliwym pizoelektrycznym kryształem i sonda. Do łowienia białek służą nanowędki – to nanoostrza na maleńkich dźwigienkach, na których końcu są mikro-igielki. Dzięki tej metodzie możemy chwytać pojedyncze cząsteczki białka za swobodne końce łańcuchów i poddawać je mechanicznemu rozciąganiu. Zaczęto od największego znanego białka, czyli od tytyny – białka mięśniowego, tworzącego część centralną sarkomeru (powszechnie słyszy się tylko o miozynie i aktynie, a trzecim białkiem w sarkomerze jest właśnie tytyna). Tytyna ma rolę strukturalną. Miozyna obudowuje się wokół tytyny, ale część tytyny wystaje z miozyny, łączy się z końcem sarkomeru i kontroluje elastyczność sarkomeru. To białko naturalnie może się rozciągnąć do 4 mikronów. Kiedy rozciągamy białko za pomocą mikroskopu sił atomowych, ważna jest charakterystyczna siła związana z tym rozciąganiem – przy tej sile następuje rozpad struktury białka. W wypadku tytyny to jest 200 pN (pikonewtonów). Przeciętne białka mają koło 100 pN, a np. cząsteczka kwasu dezoksyrybonukleinowego DNA tylko rzędu 15pN.

W 20 minut

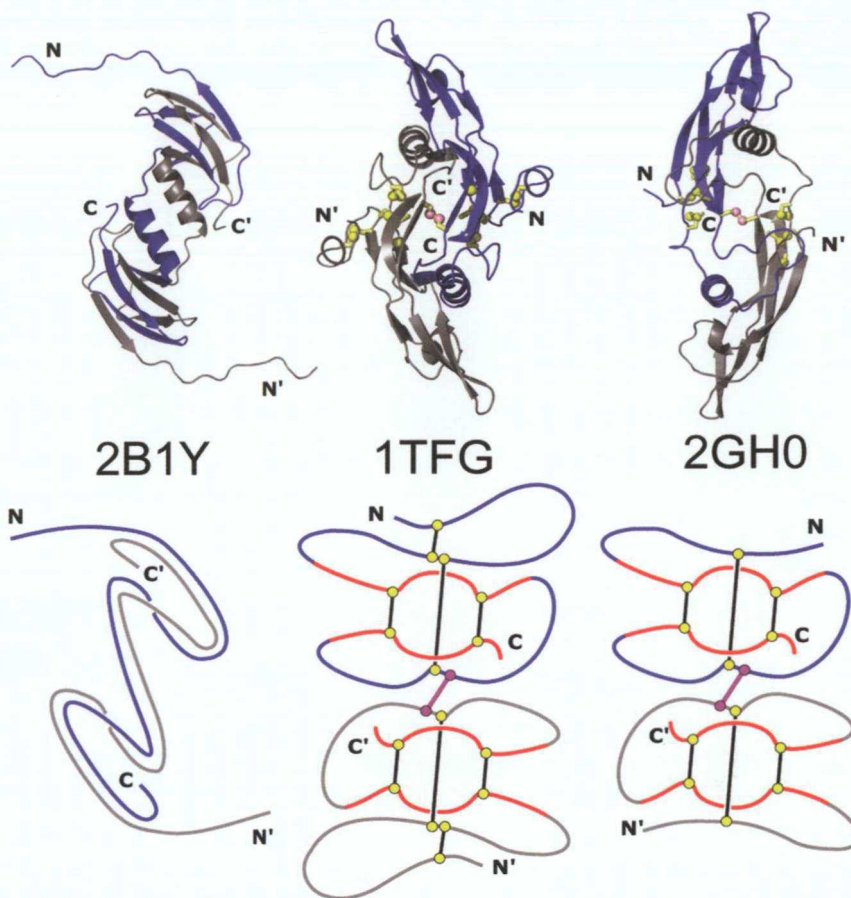
Pierwszy model atomowy zrobiła grupa słynnego badacza Klausa Schultena z Uniwersytetu Illinois. To nie były doskonałe symulacje ze względu na konieczność wykonywania obliczeń dla szybkości rozciągania o rzędy wielkości za dużej w stosunku do doświadczenia, niemniej grupa ta

jako pierwsza zidentyfikowała, co było źródłem oporu – pojawianie się siły, a potem jej spadku. W wypadku tytyny to jest sześć wiązań wodorowych między terminalnymi końcami białka. Przy rozciąganiu następuje ścinanie dwóch nici i to powoduje tak duży opór na rozciąganie. Doświadczenia z rozciąganiem białek wymagają jednak dużej staranności i są czasochłonne – niewiele laboratoriów potrafi je przeprowadzać. W rezultacie do tej pory na świecie przebadano w ten sposób zaledwie ok. 100 białek. W Instytucie Fizyki PAN robimy symulacje komputerowe, które korzystają z naszego własnego modelu teoretycznego. W ten sposób udało nam się przebadać ponad 18 tysięcy białek. Nasz model jest uproszczony, empiryczny, ale przez to symulacje są bardzo szybkie. Wyniki zgadzają się z pomiarami. W 20 minut udaje nam się osiągnąć to co grupie Schultena w pół roku. Zrobiliśmy pierwszy przegląd około 7 tys. białek w tym najprostszym modelu i odkryliśmy nowe mechanizmy oporu na rozciąganie oraz istnienie białek, których stabilność mechaniczna jest ponaddwukrotnie większa od stabilności tytyny.

Informacje, które szybko uzyskujemy na podstawie obliczeń, pozwalają na zrobienie bardzo wielu porównań, które potem można zweryfikować eksperymentalnie. Efektem naszych symulacji są wykresy z charakterystycznymi maksimami siły, obrazujące zależność przyłożonej siły od przesunięcia uchwytu rozciągającego białko. Są one zdeponowane w bazie danych BSDB umiejscowionej na serwerze w IF PAN. Skupiliśmy się na 1% tych najsilniejszych białek. Pokazaliśmy, że istnieją białka, których siła dochodzi do 1500 pN. Żadne z nich nie były dotychczas badane doświadczalnie pod względem mechanicznym. Najsilniejszym z nich jest transformujący czynnik wzrostu beta-2 o kodzie strukturalnym 1TFG. Białko to występuje w organizmie człowieka i ma wiele funkcji. Na przykład udział w gojeniu się ran i wzroście kości.

Pętla w pętłę

Rekordowa wytrzymałość tej grupy białek wynika ze specyficznej ich budowy w zwiniętej formie. Gdy prosty łańcuch białka zwiija się, formując strukturę natywną, w pewnym miejscu między biegnącymi równoległe do siebie fragmentami łańcucha tworzą się dwa silne wiązania kowalencyjne – mostki dwusiarczkowe. To jak na wpół złożona i zszyta lina: tworzy się tam pętla zwana pętlą cystynową. Przez środek tej pętli przechodzi jeszcze jeden mostek dwusiarczkowy, który tworzy się między dwoma innymi fragmentami białka – jeden nad pętlą cystynową, a drugi pod. Ciągnięcie za końce białka



Rekordowa wytrzymałość tej grupy białek wynika ze specyficznej ich budowy w zwiniętej formie

powoduje przeciąganie fragmentów białka przez pętlę, co staje się zadaniem podobnym do przeprowadzania wielbłąda przez ucho igielne. Jak się przecisnie, nastąpi znacząca i nieodwracalna zmiana kształtu białka. W przypadku białka 1TFG jest jeszcze dodatkowa atrakcja: po jednej stronie pętli, za mostkiem, mamy drugą sporą pętlę. Jeśli przyłożymy siłę rozciągającą do odpowiednich końcówek białka, stajemy przed trudnym zadaniem: musimy przepchnąć dużą pętlę przez mniejsze od niej oczko. To udaje się dopiero wtedy, gdy działająca siła jest tak duża, że silnie zdeformuje pętlę.

Innego rodzaju silne białka występują w niciach pajęczych – czyli w jedwabiu pajęczym. U każdego pająka są różne rodzaje nici – jedna do łapania owadów, druga do przemieszczania się. Ich mechanostabilność została pomierzona. Ta do łapania to rząd 800-900 pN, ta druga ma około 200 pN. Początkowo badaliśmy sytuacje dla monomerów. Dopiero po sprawdzeniu dimerów okazało się, że wyniki są zależne od sposobu ciągnięcia. W jedną stronę może być 100 pN, a w drugą 1500 pN. Tak odkryliśmy najsilniejsze białko, które wcześniej odrzuciliśmy. To białko o zupełnie innej strukturze niż te w niciach pajęczych. W przyszłości może da się je zastosować np. do absorbowania sporych energii powstających przy uderzeniu.

Rozmawiała: **Patrycja Dołowy**

Chcesz wiedzieć więcej?

Sikora M., Cieplak M. Cystine Plug and Other Novel Mechanisms of Large Mechanical Stability in Dimeric Proteins (2012). *Phys. Rev. Letters*, tom 109, artykuł nr 208101.