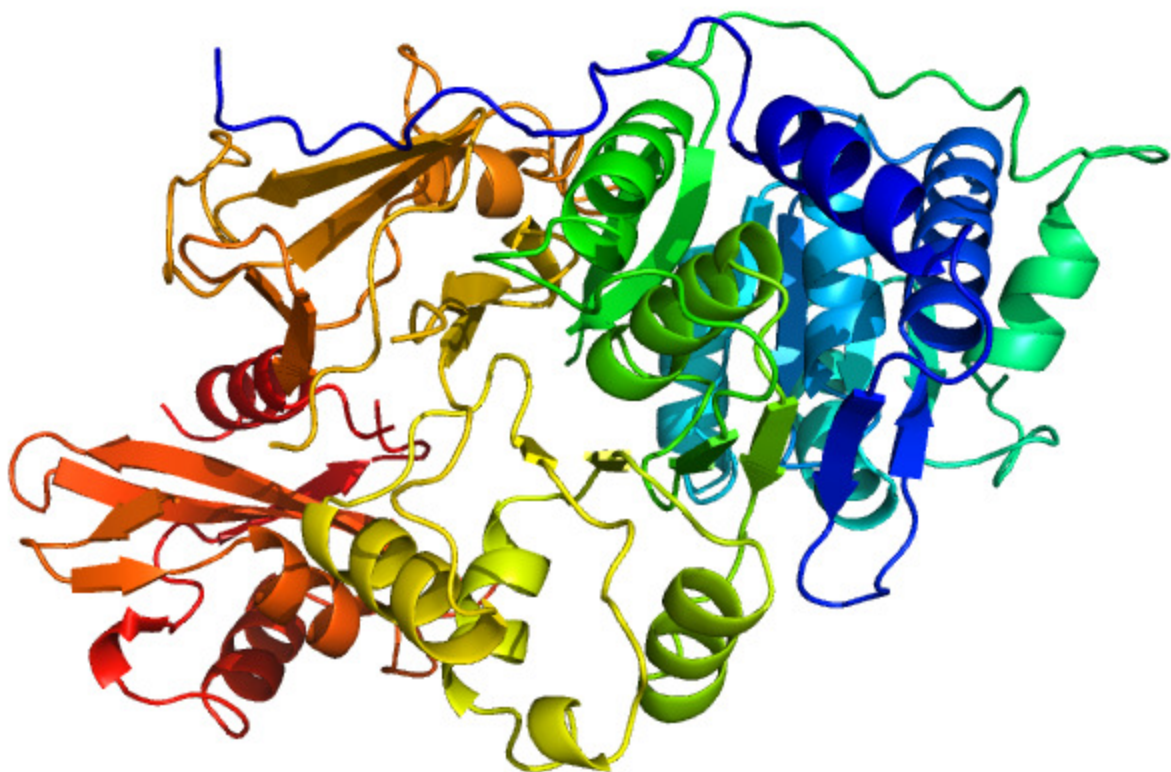


Łukasz Ołdziejewski
Wydział Chemii UW

Przewidywanie struktur białek

czyli
droga do projektowania indywidualnych leków



Indywidualność jednostki

Każdy człowiek jest indywidualnym zestawem genów odziedziczonych po naszych przodkach. Determinują one wiele naszych cech: wygląd, podatność na choroby, ale również to jak organizm reaguje na leki. Potwierdzają to badania przeprowadzane w trakcie wprowadzania leków na rynek, które stwierdzają że będzie on skuteczny w przypadku pewnego procentu populacji, dla innych działanie może być zmniejszone albo w ogóle nie zaistnieć. Dzieje się tak, dlatego że farmaceutyki działają na białka, łącząc się z nimi na centrach aktywnych, wywołując tym samym odpowiednią reakcję całego organizmu.

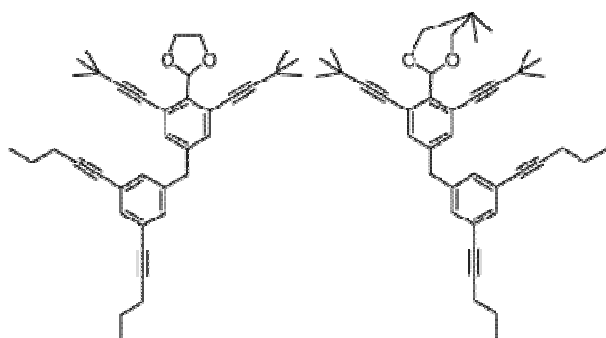
Ewolucja powoduje ciągle różnicowanie i wprowadzanie modyfikacji do materiału genetycznego, który determinuje sekwencje białek. Ciągłe zmiany wpływają na strukturę białek czyli ułożenie w przestrzeni nukleotydów (aminokwasów). Nawet nieznaczne modyfikacje mogą sprawić, że lek nie będzie mógł połączyć się z centrum aktywnym, a tym samym stanie się nieskuteczny. Problemy ze zróżnicowanym działaniem leków na ludzi doprowadziły do powstania idei projektowania leków specjalnie dla danej jednostki.

Narzędzia

Rozwój chemii w zakresie syntezy organicznej pozwala syntetyzować cząsteczki o praktycznie dowolnych kształtach. Wystarczy wspomnieć o całej „rodzince” związków stworzonych dla zabawy – Nanoputians. Dzięki symulacjom chemii kwantowej już na poziomie projektowania można przewidzieć właściwości cząsteczki oraz jej strukturę. Dodatkowo rozwój zastosowań wirtualnej rzeczywistości w chemii pozwala eksplorować każdą cząsteczkę z dowolnego punktu widzenia. Zastosowanie specjalistycznego oprogramowania i urządzeń daje niesamowite możliwości interakcji z molekułami, np.: Wirtualne rękawice pozwalają łąpać poszczególne atomy, rozciągać wiązania i odczuć fizycznie ich siłę.



Ilustracja 2: Wirtualny dotyk



Ilustracja 1: <http://jheer.org/blog/archives/000143.html>

Wydaje się zatem, że dysponujemy wszystkimi narzędziami, do tego aby ideę projektowania leków zacząć stosować z pożytkiem dla całej ludzkości.

Niestety, jeden drobny szczegół uniemożliwia natychmiastowe zastosowanie nowego sposobu leczenia...

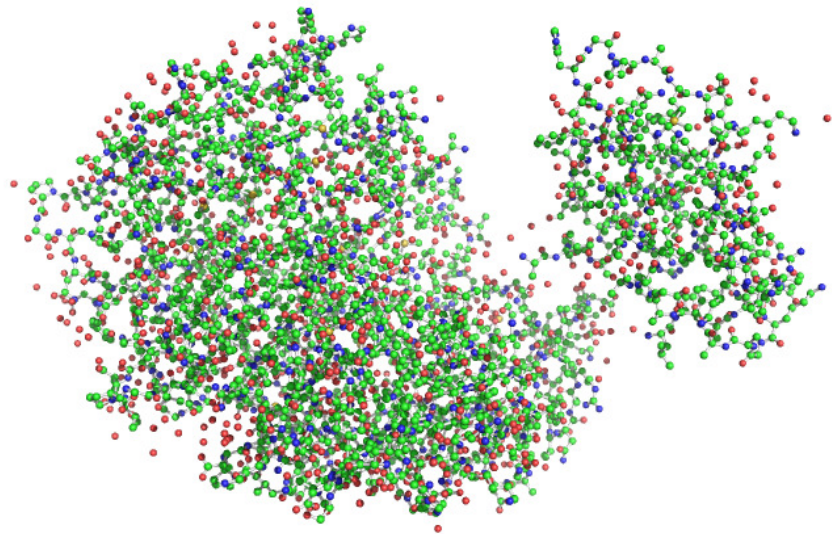
Niestety, jeden drobny szczegół uniemożliwia natychmiastowe zastosowanie nowego sposobu leczenia...

Tajemnica białek

Wspaniały postęp nauki w dziedzinach chemii kwantowej i modelowania molekularnego pozwala na opracowywanie niedużych cząsteczek (takich jak leki), lecz ogrom informacji jakich wymaga ocena struktury białka sprawia, że zastosowanie wymienionych technik jest praktycznie niemożliwe. Głównymi narzędziami wykorzystywanymi w analizie struktury są rentgenografia (analiza kryształów za pomocą dyfrakcji promieniowania X na atomach) oraz NMR (Rezonans Magnetyczny Jąder). Niestety są one mocno ograniczone.

Rentgenografia wymaga, aby próbka była w postaci kryształów, co jest bardzo dużym zawężeniem możliwych struktur do opracowania, gdyż krystalizacja jest w tym przypadku bardzo trudnym, a często czasochłonnym procesem. Najczęściej białka występują nie w postaci stałej, ale w roztworach, co także może wpływać na ułożenie nukleotydów. NMR w prawdzie nie jest ograniczony co do stanu skupienia, ale także nie jest metodą doskonałą, gdyż ogromna ilość nakładających się na siebie sygnałów od atomów, często uniemożliwia skuteczne określenie struktury.

Zautomatyzowany proces sekwencjonowania białek pozwala na analizę kolejności ułożenia aminokwasów, jednak nie mówi o strukturze. Aby jeszcze bardziej przybliżyć ogrom problemu zamieszczam ilustrację przykładowego białka (Lucyferazy), oraz przytaczam liczby: Znane jest 52,016,762 sekwencji nukleotydów (dane: GenBank 2005 r.) z czego znanych struktur jest już tylko 48,235 (dane: RCSB PDB Styczeń 2008).



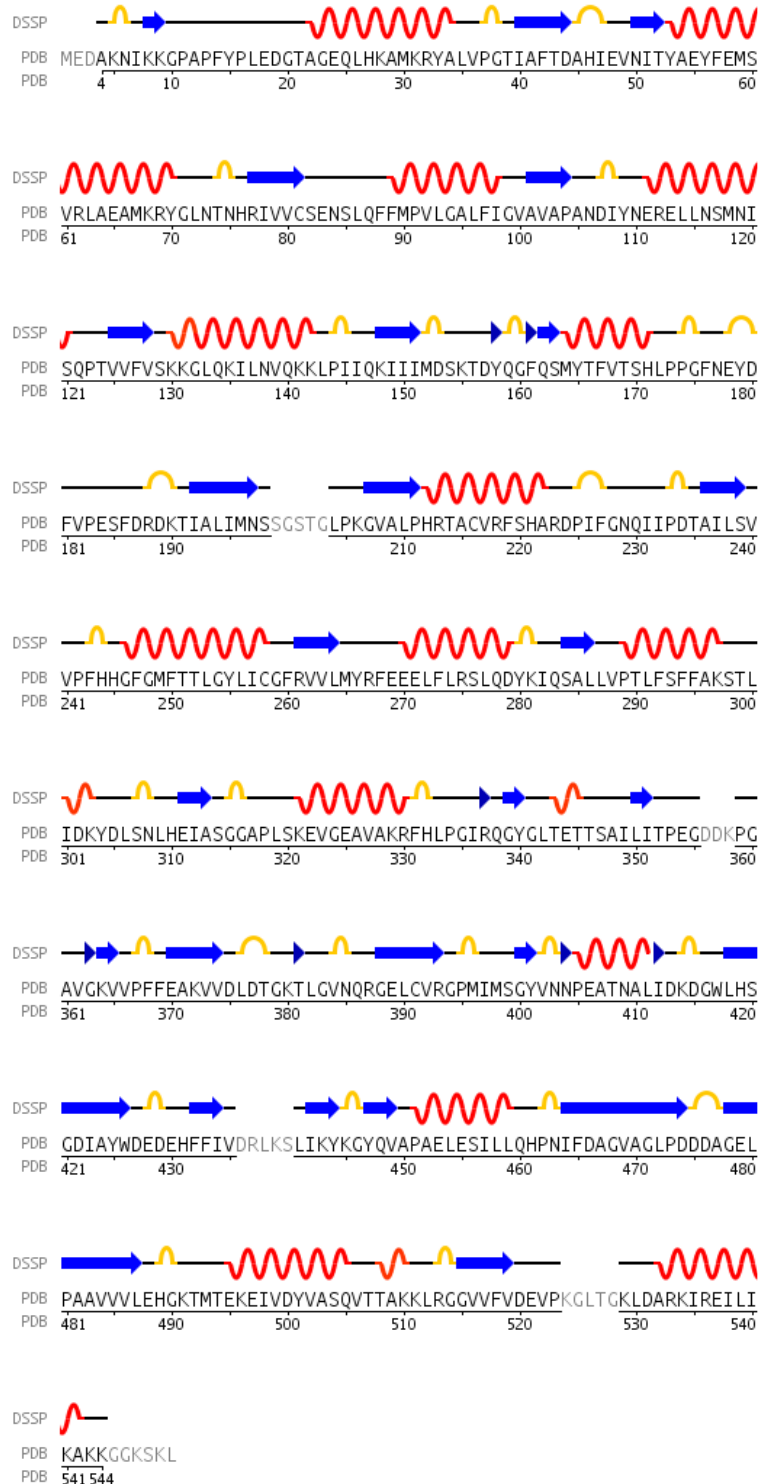
Ilustracja 3: Lucyferaza

Odkryć tajemnicę

Poszukiwania tańszych, szybszych i przy tym skutecznych metod przewidywania struktur białek zaowocowały powstaniem szeregu metod wykorzystujących statystyczne podejście do problemu. Oparte są one na przekonaniu, że jeżeli w opracowanym już białku dana sekwencja układa się w pewien sposób, to być może w innym zachowa się podobnie. Zostały opracowane specjalne algorytmy, które dzieląc białka na mniejsze fragmenty przeszukują bazy danych próbując dopasować części cząsteczki, a następnie poskładać molekułę w całość. Dodatkowo powstały również tzw. Metaserwery, które wysyłają i zbierają wyniki obliczeń z różnych serwerów na których udostępniane są programy do przewidywania ułożenia białka w przestrzeni.

Prawdziwym wyzwaniem dla naukowców, jak również weryfikacją metod jest konkurs organizowany pod nazwą CAPS (Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction). Uczestnicy otrzymywali sekwencje nukleotydów, dla białek których struktury były już znane, ale jeszcze nie opublikowane. Każda edycja (ostatnia, siódma edycja odbyła się w roku 2006. Wzięło w niej udział 207 grup) pokazywała duże postępy jakie dokonywały się na polu dopasowywania struktur. Obecnie najlepsi potrafią uzyskać około 80% zgodność z rzeczywistością, co jeszcze nie jest wystarczającą wartością do zastąpienia metod eksperymentalnych, ale daje duże nadzieje na przyszły rozwój.

Praca nad przewidzeniem struktury, zaczyna się od analizy możliwej struktury drugorzędowej białka, czyli wyznaczenia pocięcia na sekwencje i zidentyfikowanie charakterystycznych fragmentów: „helisy” czy „beta kartki”. (Na ilustracji 4: helisy - kolor czerwony; beta kartki - żółty, czarny – prosty łańcuch. Litery są symbolami poszczególnych nukleotydów)



Ilustracja 4: Sekwencja i struktura II rzędowa lucyferazy

Kolejnym krokiem jest dopasowanie i „poskładanie” rozpoznanych części w całość na podstawie różnych kryteriów. Wykorzystywana jest tu wiedza na temat oddziaływań pomiędzy atomami lub grupami atomów przybliżana np. przez zastosowanie funkcji potencjału. W rezultacie otrzymywany jest model trójwymiarowy białka, prezentujący przewidywaną strukturę.

Wątpliwości pozostają

Aktualnie nauka jest już bardzo blisko wprowadzenia indywidualnego projektowania leków do medycyny. Pozostaje zrobienie jeszcze jednego kroku, jakim jest opracowanie tanich metod przewidywania struktur białek na podstawie sekwencji nukleotydów. Jednak pomimo bliskości rozwiązania problemu i dużych postępów w dziedzinie bioinformatyki trudno nie mieć wrażenia że tego ostatniego kroku jeszcze długo nie postawimy.