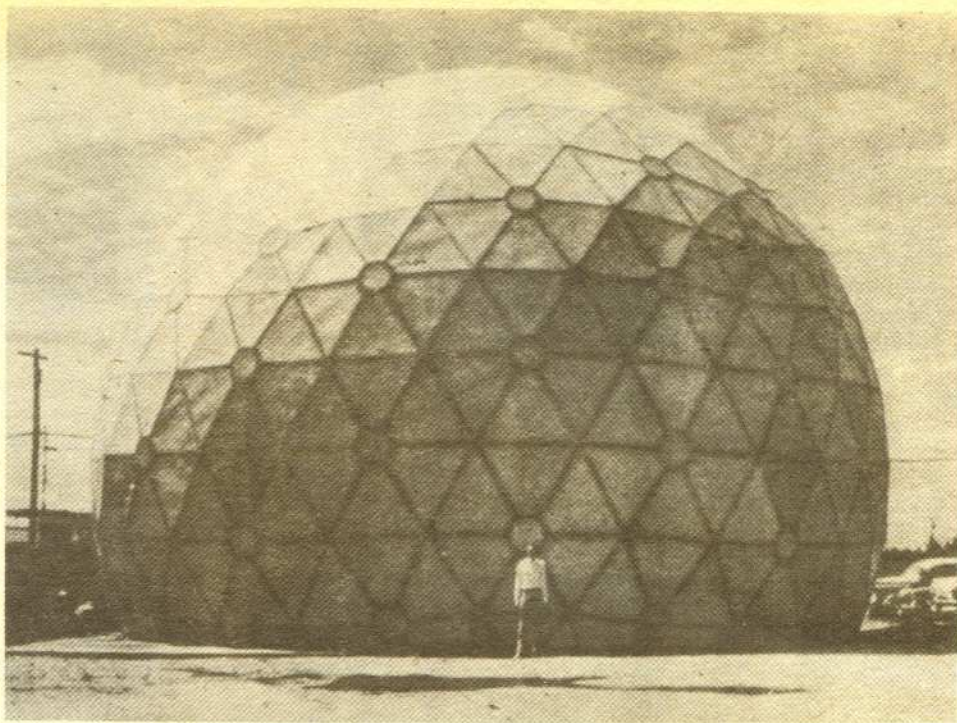


Kopuła geodezyjna projektu Buckminstera Fullera. Kopuła jest wycinkiem bryły o symetrii dwudziestościanu foremnego. W 12 narożach elementy kopuły łączą się po 5 tworząc pentamery.



Budowa prostych wirusów kulistych

Doc. dr Włodzimierz ZAGÓRSKI

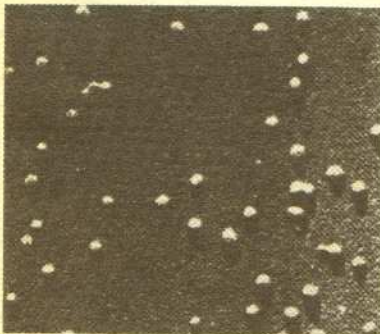
Obserwacje choroby mozaiki tytoniu dowiodły istnienia specjalnej klasy patogenów przesączających się przez filtry zatrzymujące bakterie. Tego typu przesączalny, submikroskopowy, ciepłotrwały czynnik zakaźny został nazwany przez Beijerincka *contagium vitum fluidum*. Wkrótce poznano więcej tego typu patogenów i przeniesiono na nie ogólną nazwę wirusów, oznaczającą dawniej po prostu czynnik zakaźny.

Zupełnie niespodziewanie okazało się, że pozornie nieistotna cecha fizyczna oddziela od siebie dwa odmienne rodzaje form biologicznych — twory komórkowe i twory ulegające samopowielaniu się, lecz nie będące komórkami. Pozorne kontinuum świata biologicznego rozpadło się: wymiary fizyczne rozgraniczyły materiężywioną na klasy różniące się nie tylko wielkością, ale i rodzajem organizacji.

A organizacja cząstek wirusowych, czyli wirionów, rzeczywiście jest odmienna od organizacji innych tworów biologicznych — populacja wirionów tego samego wirusa jest bowiem złożona z tworów o jednolitym kształcie. W przypadku wirusów „kulistych” cząstki mają zawsze tę samą, typową dla danego gatunku średnicę, a w przypadku wirusów „pałczkowatych” — średnicę i długość.

By nie poszerzać zbyt tematu, omówię tu skrótowo wyłącznie zasady budowy tzw. wirusów kulistych, posługując się przykładem wirusa f2 zakażającego bakterie i roślinnego wirusa krzaczastej karłowatości pomidora (TBSV). Oba te wirusy należą bowiem właśnie do klasy wirusów kulistych, a ich białkowe otoczki, zwane kapsydami, zbudowane są z takich samych podjednostek, czyli swoistych dla danego wirusa białek. Oba są też tzw. RNA-wirusami, ich informacja genetyczna zakodowana jest bowiem w kwasie rybonukleinowym, a nie — jak w przypadku komórki — w kwasie dezoksyrybonukleinowym. Oba wirusy łatwo wyizolować w dużych — gramowych — ilościach, co umożliwia daleko posuniętą analizę ich struktury opartą na mikroskopii elektronowej i krystalografii rentgenowskiej.

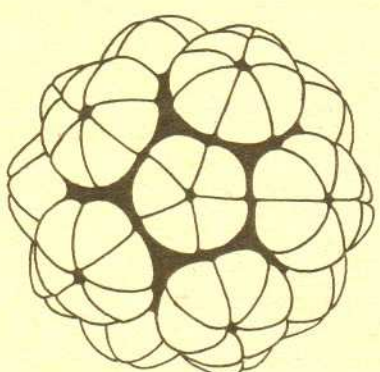
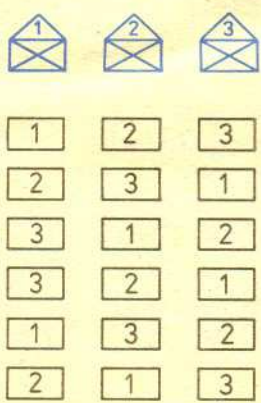
Nazwa kulisty kapsyd czy kulisty wirion odzwierciedla mikroskopowy kształt wirusa. Bliższa analiza wskazuje jednakże, że kuliste kapsydy są w istocie bryłkami o symetrii bazującej na dwudziestościanach foremnym. Stwierdzenie to miało pierwszorzędne znaczenie dla zrozumienia biologii molekularnej wirusów. Kształt ten został bowiem przewidziany dla takich wirusów przez



Preparat wirusa T5 oglądany w mikroskopie elektronowym. Zwraca uwagę jednolitość kształtów wirionów.



Rozwiązanie zadania M 423. Załóżmy, że było n listów. Jest $n!$ możliwych sposobów rozmieszczenia listów w kopertach i jak zwykle w takich zadaniach każdemu z nich przypiszmy prawdopodobieństwo $\frac{1}{n!}$. W takim razie, aby obliczyć wartość oczekiwaną liczby listów we właściwych kopertach, trzeba zsumować liczby właściwie umieszczonych listów dla wszystkich ustawień i wynik podzielić przez $n!$. (Rysunek przedstawia sytuację dla 3 listów.) W naszym przypadku tablica ma n kolumn i $n!$ wierszy. W każdej kolumnie jest $(n-1)!$ właściwie umieszczonych listów: istotnie jest dokładnie $(n-1)!$ ustawień, przy których ustalony list trafia do właściwej koperty. Zatem wartość oczekiwana wynosi $\frac{n \cdot (n-1)!}{n!} = 1$. Czyli niezależnie od n średnio jeden list trafia tam, gdzie trzeba.



Ułożenie podjednostek białka kapsydu na powierzchni wirionu faga f2.

Watsona i Cricka. Zasadniczym pojęciem, na którym oparli oni swoje przewidywania, była sformułowana przez nich zasada oszczędnego wykorzystania informacji genetycznej. Pojęcie to zrodziło się z następujących rozważań. Kod genetyczny ma charakter trójkowy, czyli 3 nukleotydy określają jeden aminokwas. Średnio rzecz biorąc, masa cząsteczkowa trzech nukleotydów wynosi około 1000, jednego zaś aminokwasu około 100. RNA takiego wirusa jak f2, o masie cząsteczkowej 1 100 000, może więc kodować sumarycznie syntezę białek o masie cząsteczkowej około 100 000 — inaczej mówiąc, pojemność genetyczna tego RNA wystarcza na syntezę białek o masie 100 000. Przy tego typu przeliczeniach odlicza się zwykle 10% masy RNA na odcinki niekodujące, mające charakter regulacyjny. Masa cząsteczkowa samego kapsydu białkowego f2 wynosi 2 520 000, a więc wielokrotnie przekracza pojemność genetyczną tego RNA. Oznacza to, że wirus nie jest w stanie zawrzeć w swoim RNA informacji niezbędnej do budowy kapsydu z różnorodnych białek, musi więc on oszczędnie wykorzystywać swoją informację genetyczną produkując jako białko kapsydu krótki polipeptyd, w wielu kopiach, na tym samym odcinku RNA. Takie krótkie, tożsame polipeptydy o niskiej masie cząsteczkowej mogą się scalać w kapsyd o znacznej masie.

Zasada oszczędności wykorzystania informacji genetycznej związana jest z tym, że wirusy ewoluują kumulując maksymalną ilość informacji w ograniczonej ilości kwasu nukleinowego. Ilość ta jest ograniczona objętością wirionu. Niewielka ilość kwasu nukleinowego wirusa musi zapewnić powielenie wirusowego RNA i syntezę białek strukturalnych wirusa. Im „mniej” informacji genetycznej zużyte zostaje na syntezę białek kapsydu, tym „więcej” może zostać zaangażowane w proces opanowywania komórki gospodarza, niezbędny do zapewnienia namnażania się wirusów. Wirusy są przykładem maksymalnego uproszczenia biologicznej jednostki samopowielającej się — temu uproszczeniu towarzyszy maksymalne zmniejszenie liczby rodzajów białek strukturalnych, co prowadzi do redukcji kształtu do prostych form geometrycznych.

Dlaczego jednak z redukcji rodzajów białek strukturalnych wyniknąć ma tworzenie wysoko uporządkowanych kształtów? Odpowiedź na to pytanie związana była z przyjęciem drugiego założenia: tożsamości kształtu cząsteczek białkowych o tej samej sekwencji aminokwasowej. Przyjmując tożsamość kształtu cząsteczek białka kapsydu należało zastanowić się, w jaki sposób ze stałej ilości tożsamych elementów (tu — bryłek białkowych) można zbudować „kulisty” kapsyd o możliwie najmniejszej średnicy. Watson i Crick dostrzegli, że jest to możliwe wówczas, gdy elementy te rozmieszczone zostaną na powierzchni dwudziestościanu foremnego. Wkrótce stwierdzono, iż rzeczywiście kapsydy wirusów kulistych mają symetrię dwudziestościanową (ikosaedralną). Na powierzchni tej bryły w równoważnych pozycjach można jednakże rozmieścić co najwyżej 60 identycznych podjednostek. Tymczasem w kapsydach wielu wirusów liczba cząsteczek białkowych jest zwykle wyższa, np. w kapsydzie RNA-fagów stwierdza się obecność 180 cząsteczek białka.

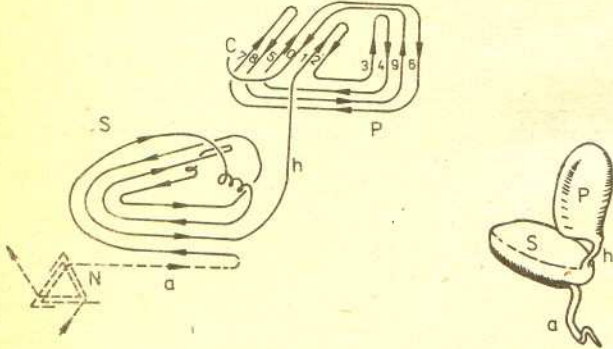
Rozwiązanie zagadnienia rzeczywistego rozmieszczenia podjednostek na powierzchni wirusa przyszło z zupełnie niespodziewanej strony. Caspar i Klug poszukując odpowiedniego modelu objaśniającego budowę tzw. brył izometrycznych złożonych z więcej niż 60 tożsamych elementów, natknęli się na konstrukcję tzw. kopuły geodezyjnej, zaproponowaną przez Buckminstera Fullera, twórcę m. in. geometrycznych zasad efektywności konstrukcji. Fuller postawił przed sobą zadanie zbudowania kopuły z możliwie najmniejszej liczby podobnych elementów. Jego kopuła zbudowana została z 720 trójkątów należących do 12 (i tylko 12) typów, przy czym trójkąty te są „prawie równoboczne”. Co więcej — okazało się, że ta „możliwie najefektywniejsza kopuła” ma symetrię odpowiadającą dwudziestościanowi foremnemu. W dwunastu miejscach kopuły Fullera trójkąty te są zgrupowane po 5, tworząc tzw. pentamery. One z kolei tworzą naroża dwudziestościanu foremnego. Kopuła ta zbudowana jest zgodnie z zasadą quasi-równoważności, co znaczy, że trójkąty są prawie identyczne. Przy przyjęciu więc quasi-równoważności bryłę o symetrii dwudziestościanu — ikosadeltaedron — można zbudować z nie więcej niż 60 elementów. Caspar i Klug założyli więc, że podobna reguła obowiązuje w budowie kapsydów wirusów kulistych.

Omawiane przez nas wirusy należą właśnie do tej klasy. Analiza dużych powiększeń zdjęć w mikroskopie elektronowym pozwoliła na ustalenie rozmieszczenia podjednostek białkowych na powierzchni kapsydu.

Rozwiązanie zadania M 421. Zauważmy, że dla dowolnych liczb całkowitych x i k liczba $w(x+2k) - w(x)$ jest parzysta. Wobec tego wielomian w przyjmuje dla całkowitych x tylko wartości nieparzyste, zatem nie ma pierwiastków całkowitych.

Założenia Caspara i Kluga dotyczące kapsydów o symetrii dwudziestościennej uzyskały w 1978 r. potwierdzenie doświadczalne, gdy wirusolodzy z Uniwersytetu Harvarda oraz MRC Laboratorium Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Cambridge wykryli i wyizolowali wirus krzaczastej karłowatości pomidora (TBSV) zbliżony strukturalnie do wirusa f2. Analiza rentgenograficzna takich kryształów pozwoliła jednoznacznie określić przebieg łańcuchów polipeptydowych w podjednostkach białka kapsydu, poznać kształt tych podjednostek i ich wzajemne ułożenie. Rysunek 1 przedstawia schemat przebiegu łańcucha polipeptydowego podjednostki białka kapsydu TBSV.

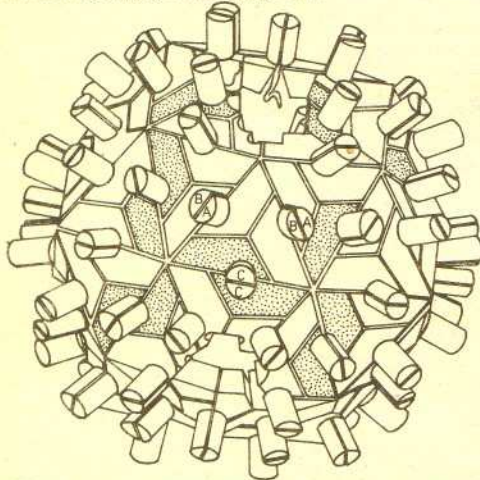
Jak widać, cząsteczka ta jest zbudowana w wysoce charakterystyczny sposób. Wyróżnić w niej można dwa ściśle upakowane rejony (domeny) będące płaskimi i sztywnymi tworami. Obie domeny połączone są krótkim odcinkiem h (2-3 aminokwasy) nie tworzącym spirali i mogącym się w pewnym stopniu odkształcać. Domena P sterczy na zewnątrz powierzchni kapsydu, domena S tworzy samą „skorupkę” kapsydu, a ramię N skierowane jest do środka kapsydu.



Rys. 1. Schemat cząsteczki białka kapsydu TBSV oraz przebieg łańcucha polipeptydowego w tej cząsteczce. C to C-koniec, N to N-koniec polipeptydu. W rejonie N-końca splecione są ze sobą N-końcowe fragmenty trzech sąsiadujących na powierzchni wirionu cząsteczek. P-domena skierowana na zewnątrz kapsydu (ang. projection), S-domena tworząca ścianę kapsydu (ang. shell), h-zawias (ang. hinge), a-ramię (ang. arm).

W wirusie podjednostka białka kapsydu występuje w postaci zespołów podwójnych (dimerów) w trzech różnych wariantach (nazwijmy je A , B i C). Domeny P tworzą na powierzchni kapsydu identyczne pary, domeny S jednakże ułożone są w nieco różny sposób w różnych fragmentach kapsydu. W ten właśnie sposób w rzeczywistości zrealizowana jest zasada quasi-równoważności podjednostek białka kapsydu wymagana przez teorię Caspara i Kluga. Zasada ta jest spełniona dzięki przyjęciu przez każdą cząsteczkę białka jednej z trzech quasi-równoważnych struktur pozwalających ściśle upakować „niby podobne” podjednostki w strukturę ikosadeltaedronu (rys. 2).

Obraz uzyskany za pośrednictwem analizy rentgenowskiej odpowiada oczekiwaniom wynikającym z rozważań nad geometrią kapsydu. Dochodzi tu jeszcze jeden dodatkowy element — mianowicie końcowy fragment łańcucha polipeptydowego sześćdziesięciu podjednostek zbudowanych w wersji C wykazuje wysoki stopień uporządkowania i, co więcej, trzy takie łańcuchy śrubowato zwiijają się wokół siebie. Zaplatając się wzajemnie pod powierzchnią kapsydu końce N łańcuchów podjednostek C dodatkowo je zespalają. Innymi słowy — nie zakłócając całej struktury i nie zmieniając jej kształtu można by było usunąć z kapsydu podjednostki A i B . Pozostałby wówczas szkielet zbudowany z zespolonych ze sobą podjednostek C utrzymujący strukturę ściśle symetryczną, gdzie każda z 60 podjednostek C występowałaby w pozycji dokładnie równoważnej. W puste miejsca takiej podstawowej sieci wejść mogą tylko takie podjednostki, które przyjmą strukturę w wariacie A lub B . Tak więc sam ściśle określony schemat powiązań podjednostek C narzuca quasi-równoważność ułożenia następnych podjednostek w kapsydzie.



Rys. 2. Kapsyd TBSV. A , B , C — podjednostki o trzech różnych strukturach i mające różne otoczenia. Zewnętrzne powierzchnie domen S podjednostek typu C zostały zacieniowane. Domeny S podjednostek A układają się w pentamery grupując się wokół osi symetrii pięciokrotnej. Domeny S podjednostek B i C leżą naprzemiennie wokół osi symetrii trójkątnej, tworzą więc heksamery. Domeny S podjednostek A , B i C tworzą quasi-trimer o płaskiej powierzchni łączący się pod dwoma różnymi kątami z sąsiednimi quasi-trimerami.

W sumie widać, że kształt modelowej struktury biologicznej, jaką jest wirion, wynika z właściwości podstawowych składników budulcowych tej struktury. I że reguły budowy struktur biologicznych są ściśle i dają się ująć w języku matematyki, fizyki i chemii. Cóż do tego dodać? Chyba już tylko to, że bryły platońskie są nie tylko ideami matematycznymi lub tworami ręki ludzkiej, lecz istnieją od zarania w otaczającej nas rzeczywistości fizycznej. I że znak pentameru, uznawany przez starożytnych za znak życia, jest nim naprawdę, będąc ukryty w najprostszych strukturach materii ożywionej.