



Contribution ID: 136

Type: Wystąpienie ustne // Talk

Kondensaty biomolekularne: demaskowanie kompleksów białkowych za pomocą FRET-FRAP

Tuesday, 9 September 2025 11:55 (15 minutes)

Białka wewnątrznie nieuporządkowane (ang. intrinsically disordered proteins, IDP) odgrywają kluczową rolę w podstawowych procesach biologicznych, między innymi w przenoszeniu informacji zapisanej w kwasach nukleinowych na białka. Ich funkcja ujawnia się dopiero w momencie, gdy tworzą kompleksy z innymi białkami, służącymi jako molekularne „nożyczki”, które przerywają szlak translacji. Ponadto IDP wywołują separację faz ciekłych (ang. liquid-liquid phase separation, LLPS) [1,2], w której zasadnicze znaczenie ma ich polimerowy charakter i wielowartościowość oddziaływań niekowalencyjnych, w które mogą się jednocześnie angażować. W procesie separacji faz ciekłych, który ma charakter binodalny, nieustrukturyzowane łańcuchy białkowe tworzą sieci oddziaływań, co prowadzi do ich lokalnego zagęszczenia i pojawiania się mikro-kropli białkowych. Co więcej, do tworzących się mikro-kropli na skutek oddziaływań międzycząsteczkowych włączane są także białka, które same nie podlegają separacji faz. Umożliwia to powstawanie w żywej komórce skomplikowanych multi-kompleksów z udziałem kilkudziesięciu różnych białek, tzw. organelli bezbłonowych, o wyspecjalizowanych funkcjach biologicznych.

Przedstawimy diagramy fazowe i wyjaśnimy molekularne podstawy zjawiska separacji ciecz-ciecz dla jednego z białek odpowiedzialnych za wyciszenie genów u człowieka. Zjawisko to oparte jest na oddziaływaniach pierścieni łańcuchów bocznych tryptofanów, bogatych w zdelokalizowane elektrony typu π - π . Oddziaływania te napędzane są entropowo, a LLPS wykazuje dolną temperaturę krytyczną. Aby zbadać w sposób ilościowy kinetykę dyfuzji cząsteczek białkowych i ich kompleksów w lokalnym zagęszczeniu wewnątrz mikro-kropelek, połączyliśmy dwie powszechnie stosowane metody: FRAP (odzyskiwanie fluorescencji po fotowysłananiu) oraz FRET (rezonansowy transfer energii Förstera). Tandem FRET-FRAP pozwolił nam odróżnić białka uczestniczące w oddziaływaniach specyficznych od tych przypadkowo uwięzionych w mikro-kroplach głównie poprzez lokalne zatłoczenie molekularne. Dzięki angstromowej rozdzielczości przestrzennej FRET-FRAP stanowi uniwersalną i wysoce selektywną metodę identyfikacji specyficznych kompleksów białkowych w warunkach wysokiego tłoku molekularnego.

Prace sfinansowano częściowo ze środków NCN: grantów 2016/22/E/NZ1/00656 dla A. N. oraz 2023/49/B/NZ1/04320 dla M. K. B. Badania przeprowadzono w laboratoriach NanoFun współfinansowanych przez EFRR w ramach programu POIG.02.02.00-00-025/09.

Primary authors: Mr BIAŁOBRZEWSKI, Michał (Instytut Fizyki, Polskiej Akademii Nauk); Mr NIEDŹWIECKA, Anna (Instytut Fizyki, Polskiej Akademii Nauk); Ms STASZAŁEK, Zuzanna (Instytut Fizyki, Polskiej Akademii Nauk)

Presenter: Mr BIAŁOBRZEWSKI, Michał (Instytut Fizyki, Polskiej Akademii Nauk)

Session Classification: Biofizyka

Track Classification: Biofizyka // Biophysics