

Akademická prémie 2014



Ve středu 25. června 2014 udělil předseda Akademie věd ČR prof. Ing. Jiří Drahoš, DrSc., dr. h. c., dvěma vynikajícím badatelům ocenění určené mimořádným vědeckým osobnostem, které v mezinárodním měřítku patří ke špičce svého oboru a přispívají k prestiži AV ČR. Akademickou prémie – Praemium Academiae – získali v r. 2014 doc. RNDr. Ondřej Santolík, Dr.,

1 Prestižní ocenění Akademie věd ČR získali v r. 2014 Ondřej Santolík (vlevo) a Jiří Šponer. Foto L. Svoboda, Akademický bulletin AV ČR

z Ústavu fyziky atmosféry AV ČR, v. v. i., a prof. RNDr. Jiří Šponer, DrSc., z Biofyzikálního ústavu AV ČR, v. v. i. Finanční prémie do výše pěti milionů Kč ročně po

dobu 6 let poskytuje prostředky na výzkum, pořízení přístrojů a mzdy pro nositele i jeho spolupracovníky a představuje nejvýznamnější vědecký grant v ČR.

Ondřej Santolík se věnuje fyzice plazmatu se zaměřením na experimentální výzkum kosmického plazmatu pomocí družicových měření, výzkumu vln v plazmatu magnetosféry Země a planet sluneční soustavy a jejich interakce s energetickými částicemi. Zabývá se analýzou družicových dat a přípravou budoucích družicových měření v kosmickém plazmatu, vede výzkumné týmy několika připravovaných družicových projektů (např. Co-Principal Investigator přístroje RPWI pro sondu JUICE k měsícům planety Jupiter), významná je také spolupráce na připravovaném projektu sluneční sondy Solar Orbiter (Co-Investigator přístroje RPW).

Hlavní působiště O. Santolíka se od r. 2007 nachází v Ústavu fyziky atmosféry, kde vede oddělení kosmické fyziky a předsedá Radě instituce, důležitá je ale také jeho pedagogická činnost. Výsledky jeho vědecké práce jsou uznávány na mezinárodní úrovni, o čemž svědčí mimo jiné četná zahraniční ocenění (cena Bernarda Bolzana za fyziku, stipendium J. W. Fulbrighta ad.). V r. 2010 byl zvolen předsedou komise H (vlny v plazmatu) mezinárodní vědecké organizace URSI (Union Radio-Scientifique Internationale), od r. 2010 je také místopředsedou Panel on Capacity Building mezinárodní organizace COSPAR (Committee on Space Research) a členem vědecké poradní struktury Evropské kosmické agentury.

Během příštích 6 let se s výzkumnou skupinou plánuje zaměřit na experimentální výzkum vzniku, šíření a projevů vln a nestabilit v kosmickém plazmatu a navázat tak na dosavadní práci.

Redakce

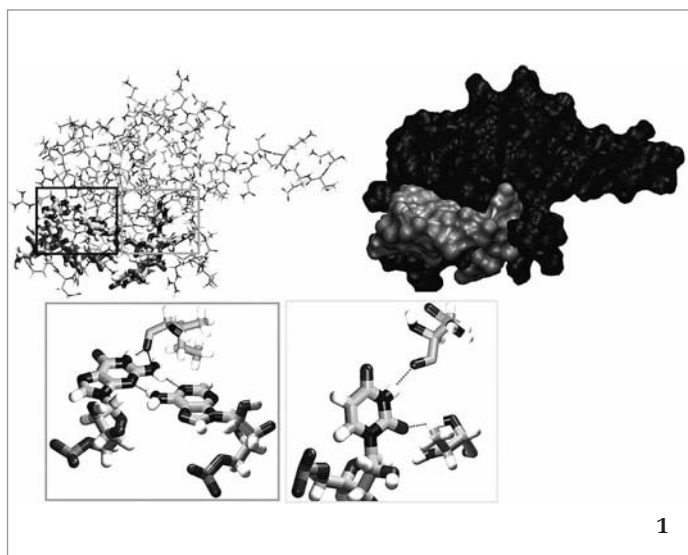
Rozhovor s Jiřím Šponerem k udělení Akademické prémie

Prof. RNDr. Jiří Šponer, DrSc., vede Laboratoř struktury a dynamiky nukleových kyselin Biofyzikálního ústavu AV ČR, v. v. i. Jeho tým se zabývá studiem struktury, dynamiky, funkce a evoluce molekul DNA a RNA pomocí nejmodernějších počítačových metod a spolupracuje přitom se špičkovými zahraničními pracovišti. V rozhovoru představuje svůj obor i témata výzkumu a vysvětluje základní principy, výhody a úskalí používaných metod.

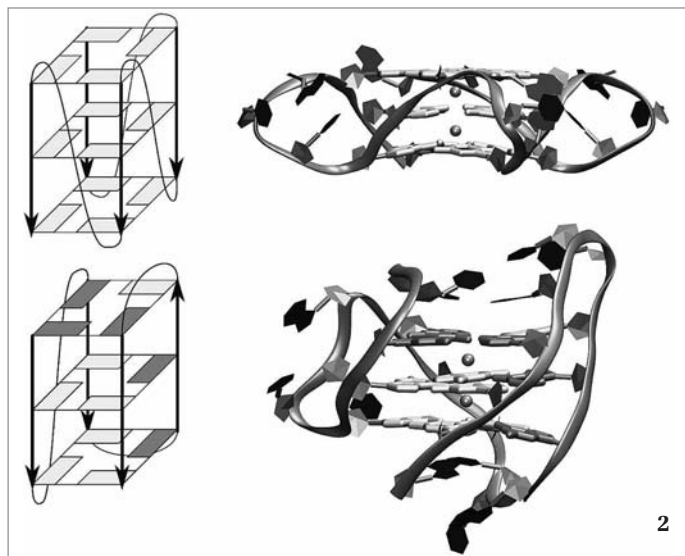
Hlavní rozvoj oboru zahrnujícího počítačové simulace a další teoretické postupy byl spojen s vývojem výkonných technologií v posledních 20 letech. Byl váš vědecký tým u rozvoje tohoto směru hned od počátku?

Měl jsem to štěstí, že jsem začal dělat teorii několik let předtím, než se ve světě objevily první počítače a programy, které umožnily provádět rozumné výpočty na biomolekulách. Klíčovou výhodou vždy byla mezinárodní konkurenceschopnost

české počítačové chemie, což zdaleka neplatí pro všechny obory české vědy. V druhé polovině 90. let jsme s prof. RNDr. Pavlem Hobzou, DrSc. (Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.), publikovali první moderní kvantověchemické studie na základních silách, které stabilizují molekuly DNA a RNA, jako jsou páry bází a vertikální patrové interakce bází (stacking). Tyto unikátní výpočty jsme prováděli výhradně v zahraničí na obrovských superpočítačích (např. Cray-YMP), které měly několik procesorů a stály desítky milionů dolarů. Dnes bych takový výpočet zopakoval na laptopu a mnohem rychleji. Nicméně, naše práce z konce 90. let jsou stále obecně platné a vysoce citované, i když se je daří s příchodem výkonnějších počítačů postupně dále zpřesňovat. V r. 1998 se nám potom v Brně podařilo asi jako třetí laboroři v Evropě použít metodiku molekulových simulací DNA, která se ve své moderní formě poprvé objevila v r. 1995. Tím jsme se postavili na obě nohy a přidali k čisté fyzikální chemii i trochu strukturní molekulární biologie. Od té doby se snažíme náš výzkum neustále tematicky inovovat, jednak proto, že jsme zvědaví, a taky proto, abychom si udrželi nyníější mezinárodní postavení. Pro srovnání, naše současné



1



2

vybavení jsou vlastní počítačové klastry pořízené díky projektu CEITEC (Central European Institute of Technology – Středoevropský technologický institut; evropské strukturální fondy) v hodnotě přes 10 milionů Kč, s nimiž jsme znovu konkurenceschopní. Bohužel smutným vedlejším důsledkem rychlého vývoje počítačů je i jejich rychlé zastarávání, a tím nutnost neustálého obnovování.

Jaké metodické přístupy ke studiu molekul nukleových kyselin se používaly předtím? Mohly zodpovědět nyní řešené otázky na dané úrovni struktury a procesů, nebo jste nebyli schopni jít do takových detailů? Můžete krátce představit čtenářům Živý používané metody a základní témata, jimiž se zabýváte, a některé z vašich výsledků?

Molekuly nukleových kyselin jsou vzhledem ke svému významu zkoumány všemi dostupnými experimentálními metodami. Jejich svět je ale tak komplikovaný, že současné postupy zdaleka nedokáží postihnout všechny aspekty. Typické mezery v experimentálně dostupných vlastnostech představují např. popis procesů, kterými biomolekula zaujímá svou biologicky účinnou strukturu, simultánní podchycení strukturálních a energetických vlastností biomolekul, popis strukturální dynamiky na úrovni atomů a další. To otevírá prostor pro počítačové metody, které jsou schopny alespoň některé z mezer v našich vědomostech zaplnit. Význam teoretických přístupů v oblasti studia nukleových kyselin stoupá, což souvisí výrazně s trvalým růstem výkonnosti počítačů a vývojem nových výpočetních metod. V oboru výpočetní chemie byla v uplynulých 15 letech udělena dvakrát Nobelova cena za chemii (1998, John Pople – základy výpočetní kvantové chemie a 2013, Martin Karplus, Michael Levitt a Arieh Warshel – komplexní modelování biomolekul). Spolunositel Nobelovy ceny z r. 1998 je i Walter Kohn za teorii hustotního funkcionálu (metodika, kterou jsme v posledních letech začali rozsáhle používat). Pokud jde o naše výsledky, možná bych nevybíral jednotlivě, tato práce dává smysl jako celek, protože se nám podařilo originálním způsobem přispět ke komplexnímu pochopení obecných principů

strukturální dynamiky nukleových kyselin a také vztahu mezi strukturální dynamikou a funkcí a evolucí nukleových kyselin. Dva konkrétní příklady systémů, které laboratoř nyní studuje, uvádějí obr. 1 a 2.

Nezbytnou podmínkou, bez níž nelze zadávat simulace biochemických procesů, je předchozí experimentální určení prostorové (3D) struktury zkoumaných molekul na atomární úrovni rozlišení. Základní výpočetní metodiky, které následně používáme, jsou dvě. V počítačových simulacích napodobujeme pohyb (strukturální dynamiku) reálných molekul ve vodném prostředí. Běžně studujeme systémy o velikosti kolem stovky reziduí (nukleotidů a aminokyselin). Výhodou simulací je, že sledují polohu všech atomů systému v čase s rozlišením pikosekund, včetně všech vod i vodíků. Limitací je časová škála pohybů, které můžete sledovat, dnes mikrosekundy. Chcete-li delší procesy, musíte si pomoci speciálními triky, které ale mohou ovlivnit výsledky. Hlavní nevýhodou této jinak dokonalé metodiky je, že biomolekuly jsou popsány pouze přibližným modelem, klasickou potenciálovou funkcí popisující jednotlivé atomy jako van der Waalsovy kuličky doplněné o bodové partiální náboje a propojené velmi zjednodušeným popisem kovalentní struktury.

Druhou základní techniku představuje kvantová chemie založená na řešení Schrödingerovy rovnice, která dokáže být nesmírně přesná, pro malé systémy přesnější než experimenty. Nicméně nás omezuje velikost systému. V posledních dvou letech se snažíme dostat od desítek atomů ke stovkám atomů, což je ale stále z hlediska biologie zoufale málo. Nicméně díky své přesnosti kvantová chemie i tak poskytuje řadu velmi cenných výsledků. Obě metodiky lze propojit do hybridního přístupu, kdy malou část systému popíšeme kvantověchemicky a zbytek klasicky. Přesné kvantověchemické výpočty navíc hrají důležitou roli v kalibraci klasického modelu. Samozřejmě se snažíme výpočetní metodiky kombinovat i s bioinformatickými přístupy.

Co tvoří vstupní data pro počítačové simulace a teoretické výpočty? Vyhážete z publikovaných výsledků experimentálních studií, a musíte proto

1 Molekuly RNA najdeme téměř vždy v molekulárních komplexech s proteiny, přičemž variabilita interakcí na rozhraní protein – RNA se zdá být až nekonečná. Díky vývoji počítačů v posledních několika letech jsme začali být schopni tyto systémy studovat pomocí počítačových simulací. Na obr. molekulární komplex transkripčního faktoru ze skupiny FOX proteinů interagující s jednořetězcovou RNA (menší molekula, vlevo nahoře silnými čarami), kterou studujeme ve spolupráci s laboratoří NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spektroskopie Frédérica Allaina z Curychu (Institute of Molecular Biology and Biophysics, ETH Zurich). Spodní část obr. ukazuje detail klíčových vodíkových vazeb, zabezpečujících sekvenčně-specifické rozpoznání RNA a proteinu.

2 Mezi nejzajímavější molekuly DNA a RNA patří guaninové G-kvadruplexy (viz také Živa 2009, 3: 98–100). Mohou je tvořit sekvence bohaté na guaniny, kterých se v genomu nacházejí statisíce. Základem G-kvadruplexů jsou čtyřstranné tvořené čtverci ze čtyř guaninů stabilizované monovalentními ionty. Jejich hrany propojují jednořetězcové úseky (smýčky). Kvadruplexy mají pravděpodobně řadu biologických úloh, představují potenciální cíl farmakologické intervence a lze je využít i v supramolekulární chemii. Nejznámějším je kvadruplex lidské telomerní repetitivní sekvence (TTAGGG)_n, která tvoří jednořetězcové zakončení chromozomu regulující stárnutí buněčných populací. Pozoruhodnou vlastností tohoto kvadruplexu je jeho polymorfismus, kdy jediná sekvence zaujímá několik zcela odlišných navzájem soutěžících topologií. Dnes jich známe 6, dvě uvádíme na obr. Na schématu vlevo představují obdélníky guaniny (světlá a tmavá barva odlišuje *anti* a *syn* polohu guaninu vůči připojené deoxyriboze), šipka vyznačuje směr DNA řetězce a báze ve smýčkách nejsou pro jednoduchost znázorněny. Kuličky na obrázku vpravo označují draselné ionty (K⁺) v kanálu uprostřed struktury. Dodnes nevíme, které z těchto topologií jsou přítomny *in vivo*. Každá představuje úplně jiný cíl pro rozpozná-



vání proteiny i pro případnou protinádorovou terapii. Kvadruplexy se zabýváme od r. 1999 a dnes mimo jiné zkoumáme principy jejich polymorfismu a rovněž procesy, kterými se sbalují z původně nestrukturovaného stavu do konečné struktury. Obr. z archivu Laboratoře struktury a dynamiky nukleových kyselin Biofyzikálního ústavu AV ČR, v. v. i., pokud není uvedeno jinak

3 Zleva: Jiří Šponer, předseda Akademie věd ČR Jiří Drahoš a ředitel Biofyzikálního ústavu AV ČR Stanislav Kozubek při podpisu Smlouvy o poskytnutí Akademické prémie – Praemium Academiae 2014. Foto L. Svoboda, Akademický bulletin AV ČR

neustále sledovat zveřejňované výstupy a na jejich základě zpřesňovat modely? Jak náročné je převést poznatky z experimentálních prací do jazyka používaného při zadávání výpočtů a simulací?

Experimentální strukturní data, zejména rentgenostrukturní analýza (krystalografie) jsou absolutně klíčová jako východisko naší práce. Tyto údaje nás zároveň tvrdě drží pod kontrolou (i když bohužel zdaleka ne všechny laboratoře si toto plně uvědomují a někdy předvádějí spíše výpočetní alchymii než chemii). Nicméně, pomocí výpočetních metod jsme schopni tyto experimentální struktury dále analyzovat, např. tím, že statické zprůměrované struktury umíme rozpohybovat. Současně sledujeme molekulární strukturu a energii, což v pokusu nejde. Uvedu příklad konstrukce projektu. Dejme tomu, že chcete studovat katalytickou molekulu RNA, RNA enzym neboli ribozym. Projekt můžete začít až v okamžiku, kdy laboratoře publikují nějakou strukturu. Ta nezobrazí probíhající chemickou reakci, ale můžete ji využít jako startovní strukturu pro molekulové simulace. Z nich se následně snažíte odhadnout možné reakční mechanismy. Srovnáváte chování simulací s biochemickými experimenty, zkoušíte různé scénáře s odlišnými protonačními stavy klíčových nukleotidů v katalytickém centru, můžete simulovat chemické modifikace použité v experimentech nebo využít bioinformatická data, jako je sekvenční analýza konzervovaných nukleotidů. V zá-

věrečné fázi, pokud vše jde dobře, použijete kvantověchemický přístup a studujete možné reakční cesty na elektronové úrovni popisu. Mezitím jako vedlejší výsledek třeba identifikujete i možné defekty v metodice počítačových simulací a znovu nasadíte kvantovou chemii na získání dat, pomocí nichž se pak pokusíte metodiku počítačových simulací cíleně upravit.

Jak náročná je pak interpretace teoretických výstupů?

To záleží na konkrétním projektu. Děláte-li referenční kvantověchemický výpočet, tak klidně můžete čekat na jedno jediné číslo měsíc, a ještě se modlíte, aby náhodou mezitím nedošlo k výpadku proudu. Z několika desítek čísel lze získat podklad pro cenný článek. Nicméně pokud se taková práce někomu zdá triviální, používám následující přirovnání. Referenční výpočet vypadá snadný jako uběhnout 100 m. To zdánlivě zvládneme téměř všichni. Ne každý je ale schopen vyhrát závod na 100 m. Čili za tím jedním číslem může být schováno neuvěřitelné množství práce. Na opačném konci spektra složitosti leží analýzy počítačových simulací složitých biomolekulárních komplexů, kde musíte nejen sledovat tytéž strukturní vlastnosti jako strukturní biolog, na rozdíl od něj však nemáte jednu strukturu, ale její časový vývoj. Je třeba vyhodnotit sled desítek milionů jednotlivých struktur, v nichž najít zajímavé výsledky a ještě odlišit realitu od důsledků aproximací simulačních metod. U kvalitních simulačních studií složitých biomolekulárních systémů je prodleva mezi prvními výpočty a publikováním článku běžně dva až čtyři roky. Mezitím si vyčítáte, že jste tak složitý projekt vůbec začali. V kvantověchemické oblasti můžete mít studie složitých reakčních mechanismů, jejichž hledání představuje často měsíce úmorné práce vyžadující obrovský chemický cit a intuici. Možná jeden postřeh, ve výpočetních laboratořích našeho typu nejsou laboranti (laborantky) a technický personál, protože víceméně neexistuje žádný typ rutinních výpočtů nebo analýz, které by se daly takto zpracovávat. V obtížné situaci se pak nacházejí studenti a přede jim říkám, že tato práce má pro ně

smysl, jen pokud se chtějí skutečně stát vědci. Tím nechci říct, že by naše práce byla těžší než práce kolegů z jiných oborů, ale rozhodně není lehčí.

Využívají kolegové z experimentálních oborů, s nimiž spolupracujete, vaše teoretické výstupy k formulaci nových hypotéz a plánování experimentů? Mohou svým výzkumem prověřit platnost/pravděpodobnost vašich modelů?

U části našeho výzkumu tomu tak je. Primárním cílem výpočtů není přesně reprodukovat známá experimentální data, což mnohdy ani není možné kvůli specifickým omezením obou přístupů. Biomolekuly jsou nesmírně složité a neexistuje pro ně žádná absolutní metodika. Každá technika je ukazuje v jiných podmínkách a s jiným časovým, prostorovým a energetickým rozlišením. Nicméně se snažíme být v maximálním souladu s experimenty. Hlavním cílem ale zůstává pomáhat výsledky pokusů interpretovat, získávat relevantní data, která experiment dát neumí, a poskytovat i předpovědi, návod pro další pokusy.

Jak probíhá spolupráce se zahraničními laboratořemi? Jde o vzájemné doplňování expertiz, skládání jednotlivých poznatků nebo úseků nějakého procesu do uceleného modelu, či spíše konzultace, případně ověřování některých výstupů?

V uplynulých pěti letech jsme spolupracovali s několika desítkami zahraničních laboratoří, teoretických i experimentálních. Vzhledem k interdisciplinaritě tohoto výzkumu je podobná spolupráce naprosto nepostradatelná. Používáme při ní všechny zmíněné modely spolupráce. Zájemce o bližší informace bych odkázal na webovou stránku naší laboratoře (www.ibp.cz/cs/oddeleni/struktura-a-dynamika-nukleovych-kyselin/informace-o-oddeleni), zejména na seznam publikací.

Co může přinést další vývoj přístrojů a softwaru a jaké otázky, které v současnosti nelze spolehlivě řešit, by podle Vás mohl budoucí vývoj technologií případně zodpovědět?

Domnívám se, že i při seberychejších vývoji počítačů budeme stále schopni řešit jen zlomky problémů, které bychom rádi otevřeli. Co přesně to bude, nevím. Věda je vždy umění možného a u výpočtů v biologii to platí dvojnásob. Vzhledem k tomu, že jde o základní výzkum, tak vlastně ani nemůžete předjímat, co budete za několik let vědět, to je teprve třeba zjistit. Jen grantové agentury nás zvráceně nutí, abychom zpracovávali plány práce a věděli dopředu, co zjistíme.

Blahopřejeme Vám k udělení Akademické prémie – jakým způsobem chcete tuto významnou podporu využít?

Jde o tři miliony Kč ročně a hodlám je využít na platy pro zahraniční vědecké pracovníky a na průběžnou částečnou obnovu počítačových klastrů, našeho základního vědeckého nástroje.

Děkujeme za rozhovor.