

## GYVYBĖS KODO TVARKA

### Milda Plečkaitytė

Biotechnologijos institutas  
Graičiūno g. 8, LT-02241 Vilnius  
Tel. (370 5) 2602124; fax (370 5) 2602106  
El. paštas: mildap@ibt.lt

Via brevissima natura movens est – gamta juda trumpiausiu keliu – šio viduramžių filosofijos įžymybių skelbtojo principo racionalumą pripažįsta ir šiuolaikinis mokslas. Straipsnyje atskleidžiami ląstelės lygmens biocheminių procesų mechanizmai, rodantys sudėtingą, tačiau ekonomišką, mažiausiomis sąnaudomis veiksena. Baltymų susilankstymas yra vienas iš sudėtingiausių biocheminių procesų, lemiančių baltymų prigimtinių struktūrų susiformavimą. Baltymo struktūros praradimas yra dažnai nesuderinamas su gyvybe arba sukeliantis neurodegeneratyvias ligas. Baltymai yra gyvų organizmų darbiniai arkliai, vykdanys jiems DNR nubrėžtas funkcijas. Baltymų įvairovę sukelia tik dvidešimt aminorūgščių – statybinių baltymų blokų, struktūrinių vienetų. Baltymai yra panašūs ne tik aminorūgščių sudėtimi, bet ir tvarka, kuria aminorūgštys išsidėsto baltymo molekulėje. Kiekvienas funkciškai aktyvus baltymas ląstelėje dar turi savo erdvinę struktūrą, kuri įgyjama spontaniškai baltymui susilankstant. Kokiu būdu baltymas įgyja savo prigimtinę struktūrą yra viena didžiausių modernios struktūrinės biologijos problemų.

**Pagrindiniai žodžiai:** baltymai, susilankstymas, tikslingumas, prigimtinė struktūra, mažiausios sąnaudos.

Vienas reikšmingiausių viduramžių filosofijos pasiekimų buvo gamtos tyrimo metodologijos kūrimas. Ne tik Oksfordo empirinės krypties reišėjai, pradėdant Robertu Grosseteste'u, bet ir kitos scholastikos įžymybės tvirtino taupumo principą (*principium parsimoniae*). Gamta viduramžių mokslininkams rodėsi esanti sudėtinga, tačiau ji funkcionuojanti taupiai, mažiausiomis sąnaudomis, joje nėra nereikalingų priežasčių, yra tik tos, kurių reikia, kad reiškinys atsirastų. Naujaisiais amžiais tai kartojo Isaccas Newtonas: gamta nieko nedaro veltui, ir būtų nenaudinga daugybę daryti tai, ką galima atlikti su mažesniu skaičiu-

mi; gamtai nebūdinga prabanga nereikalingomis priežastimis.

Šiame straipsnyje iš atliktų baltymų struktūrų tyrimų rūpi parodyti gamtos tyrimo metodologiją kūrusiųjų pastangų išliekamąją vertę. Baltymų struktūros susidaro ir funkcionuoja taupiai, mažiausiai eikvodami energiją, ir net labai sudėtingai veikdami baltymai nieko nedaro veltui – sudėtinga jų veiksmas jiems būtina, o galimi atsitiktiniai nukrypimai su gyvybe nesuderinami arba sukeliantys ligas.

**Gyvybės kodas.** Sakoma, jei DNR (dezoksiribonukleino rūgštis) lemia gyvybę, tai baltymai yra pati gyvybė. Baltymai yra gyvų or-

ganizmų darbiniai arkliai, atliekantys savo pareigą, kurią nubrėžė DNR genetinis kodas. Genetinis kodas yra biologinė gyvybės kalba. DNR biologine kalba tarpininkui RNR (ribonukleino rūgštis) perduoda informaciją, koks ir kokios struktūros baltymas ląstelėje turi būti susintetintas. Teigiama, jog baltymai yra biologinės kalbos „veiksmazodžiai“ ir, be kitų funkcijų, katalizuoja biochemines gyvybės reakcijas. Toks kodavimo ir informacijos perdavimo procesas vadinamas molekulinės biologijos pamatiniu teiginiu, nes visos Žemėje esančios gyvybės, taip pat žmonių, buvimas tiesiogiai nuo to priklauso.

Visos gyvybės sistemos pasižymi specifine tvarka, organizacija bei gebėjimu nustatyti ir palaikyti tam tikrą molekulių tvarką ir organizaciją laike ir erdvėje; gebėjimu perduoti šias savybes kitoms generacijoms. Visų gyvybės formų molekulinės tvarkos ir organizacijos kilmė yra genetinė. DNR molekulė yra pirminis molekulinės tvarkos generatorius.

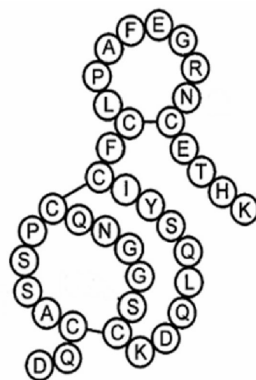
XX a. paskutiniais dešimtmečiais buvo manoma, jog žmogaus genome yra užkoduota apie 100,000 skirtingų baltymų sekų. Tokia nuomonė atrodė visai pagrįsta: žmogaus organizmas be galo sudėtingas, kiek daug jame procesų, o kiek ligų! Žmogaus Genomo projektas, prasidėjęs 1990 m., buvo tarptautinė mokslinė iniciatyva perskaityti (iškoduoti) žmogaus genomą, t. y. nustatyti seką, kuria išsidėstę DNR struktūriniai vienetai (cheminės bazių poros) ir identifikuoti numanomą žmogaus genomo genų skaičių. 2000 m. paskelbti pirmieji duomenys, o 2003 m. balandžio mėn. projektas buvo visiškai baigtas – perskaityta žmogaus (*Homo sapiens*) DNR seka. Pasirodė, jog žmogaus genomą sudarytas iš daugiau nei 6 milijardų struktūrinių vienetų – cheminių bazių porų. *Gyvybės knyga*, visos genetinės informacijos pateikimas popieriuje, sudarė

800,000 puslapių. Apdorojus gautus duomenis paaiškėjo, kad žmogaus genome yra daug mažiau genų nei buvo manyta – 20,000–25,000 vietoje manytų 80,000–140,000, be to, mažiau koduojama ir skirtingų baltymų sekų, tikriausiai apie 30,000–40,000. Nustatyta, jog tik 2–3% genomo koduoja baltymus. Likusi dalis panaudojama genų aktyvumui reguliuoti. Kitaip tariant, genomą yra pilnas „metainformacijos“, t. y. informacijos apie save. Perskaitytos genetinės informacijos apdorojimas tebevyksta ir šiandien, nes gautą informaciją dar reikia interpretuoti.

Žmogaus genomo iššifravimas yra vienas didžiausių visų laikų mokslinių pasiekimų. Pirmą kartą žmonijos istorijoje galima atsiversti ir perskaityti biologinę gyvybės knygą – žmogaus genomą. Jei iš literatūrinės produkcijos galima suprasti laikmetį ir pasaulį, kuriame gyvenama, ir galbūt jo krypsmą, tai technologijos ir informacijos amžiuje sąveika tarp žmogaus ir pasaulio pakito – žmogus koduojamas kitu kodu. Perskaitytas žmogaus genomą itin reikšmingas tokioms veiklos sferoms, kaip molekulinė medicina (greitesnė ir ankstyvesnė ligų diagnostika, genetinės ligų priežastys), farmacijos pramonė (naujų vaistų kūrimas, genų terapija), bioarcheologija, antropologija, teismo medicina. Tikėtina, jog atsirado galimybės ne tik perkoduoti žmogaus genomą ir perkelti į kitą matavimo sistemą – nanocheminę ar skaitmeninę. Nauja informacija ne tik atvėrė naujas galimybes, bet ir iškėlė bioetikos problemų, kurios yra sprendžiamos, remiantis 1997 m. UNESCO paskelbta *Visuotinė žmogaus genomo ir žmogaus teisių deklaracija*. 2003 m. priimta *Visuotinė žmogaus genetinių duomenų deklaracija* nustatė etinius principus, kurių turi būti laikomasi renkant, analizuojant, saugant ir naudojant žmogaus genetinius duomenis (gautus iš biologinių mėginių).

**Laštelės darbiniai arkliai.** Kodėl baltymai vadinami laštelės darbiniais arkliais arba biologinės kalbos „veiksmažodžiais“? Baltymai dalyvauja visuose procesuose, kurie būdingi gyvybei: genų raiškos, genomo dauginimosi, laštelių programuotos mirties, cheminės energijos virsmo mechanine, fotosintezės, kvėpavimo, signalo perdavimo, imuninės sistemos ir kituose vyksmuose. Baltymai dalyvauja šių procesų etapuose, atlikdami įvairias funkcijas: rišasi su tam tikromis DNR sekomis, taip blokuodami ar inicijuodami kitus vyksmus, transportuoja molekules, katalizuoja chemines reakcijas, dalyvauja informacijos perdavime tarp laštelių, kontroliuoja molekulių patekimą į laštelę bei jos organeles ir yra laštelės struktūriniai statybiniai blokai. Todėl baltymai yra labai parankūs kaip vaistiniai preparatai. Panaudojus biotechnologijos pasiekimus, XX a. 7-tajame dešimtmetyje susiformavo biofarmacijos pramonė. Pirmasis baltymas, gautas bioinžinerijos metodais ir patvirtintas atsakingų institucijų terapiniam panaudojimui, buvo žmogaus insulinas. Kompanija gamintojas *Genentech* jį pateikė rinkai (kartu su kompanija *Eli Lilly*) 1982 metais. Šiandien biofarmacinių vaistinių preparatų pardavimų apimtys siekia šimtus milijardų dolerių, o ši pramonės šaka laikoma viena perspektyviausių. Vis daugėja žinių apie ligų mechanizmus ir jų genetinį pagrindą, todėl biofarmacijos pramonės įmonės skuba investuoti į tų baltymų tyrimus, kurie būtų perspektyvūs ligoms gydyti ir jų prevencijai. Biofarmacijos pramonės variklis yra ir naujos technologijos, kurios daug efektyviau leidžia mokslininkams tyrinėti baltymus, tobulinti jų, kaip vaistinių preparatų, patekimo į organizmą būdus.

Norint pasinaudoti Žmogaus Genomo projekto rezultatais, pajungiant baltymus žmogaus sveikatinimui, reikia suprasti baltymų prigimtį, jų struktūrą. Laštelės lygmens procesai

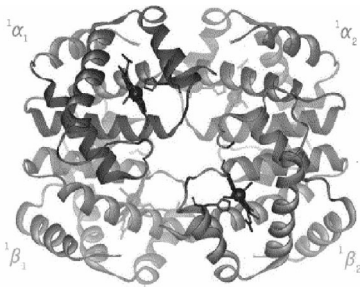


*1 pav. Scheminis baltymo, linijinės molekulės, vaizdas. Raidėmis pažymėtos aminorūgštys (kiekviena iš 20 aminorūgščių turi savo vienraidį kodą), sudarančios linijinę grandinę. Aminorūgštis cisteinas (pažymėta C raide) sudaro jungtis su kitu cisteinu*

savo veiklą organizuoja pačiu efektyviausiu keliu, ir todėl baltymai yra ne išimtis. Efektyvumo samprata molekulinėje biologijoje grindžiama bendrąja efektyvumo samprata. Panašiai kaip deramai organizuotoje teorijoje maksimalus išvadų skaičius gaunamas iš minimalaus pradinių sąvokų ir principų skaičiaus, taip minimalus baltymų struktūrinių vienetų skaičius determinuoja visą baltymų įvairovę. Baltymas yra linijinė molekulė, sudaryta iš statybinių blokų, struktūrinių vienetų, vadinamų aminorūgštimis. Baltymų įvairovę sukelia tik dvidešimt aminorūgščių, išsidėsčiusių tam tikra tvarka, būdinga individualiam baltymui (1 pav.).

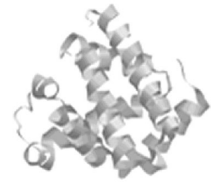
Aminorūgštys, jungdamosi viena su kita cheminiais ryšiais, formuoja linijines grandines. Patys baltymai gali egzistuoti kaip vienetinės grandinės arba sudaryti daugybines grandines. Taigi baltymas yra rinkinys vieno ar kelių grandinių, tarpusavyje laikomų cheminių jungčių, kurios ir stabilizuoja šio komplekso susidarymą ir palaikymą (2 pav.).

Iki Antrojo pasaulinio karo manyta, jog baltymai skiriasi vienas nuo kito tik amino-



2 pav. Baltymo hemoglobino molekulė (erdvinis vaizdas), sudaryta iš keturių grandinių – dviejų alfa ( $\alpha 1$  ir  $\alpha 2$ ) ir dviejų beta ( $\beta 1$  ir  $\beta 2$ )

MARSERQWECA... →



3 pav. Baltymas iki ir po susilankstymo. Raidės žymi atitinkamas aminorūgštis; parodyta nedidelė linijinės grandinės dalis

rūgščių sudėtimi, neatsižvelgiant į tai, kokia tvarka tos aminorūgštys yra išsidėsčiusios grandinėje. 1951 m. Frederickas Sangeris atrado būdą, kaip nustatyti aminorūgščių seką baltymo molekulėje (Sanger and Tuppy, 1951). Jis su kolegomis nustatė baltymo insulino aminorūgščių seką. Paaikškėjo, jog tie patys baltymai yra ne tik panašūs savo aminorūgščių sudėtimi, bet turi ir tą pačią aminorūgščių seką.

Tyrinėjant baltymų sekas pradžioje manyta, jog baltymai gali būti nestruktūrintos molekulės, formuojančios gijas. Toks požiūris iškėlė naują problemą: kaip tų pačių baltymų aminorūgščių sekos panašumas lemia šių baltymų funkcijų panašumą? Buvo pastebėta, jog kaitinant baltymus aukštesiose temperatūrose ir vėl juos atšaldant, baltymai iš dalies arba visiškai praranda savo funkciją, nors cheminis baltymo vientisumas ir aminorūgščių seka baltymo molekulėje nepakito. Tuomet kilo idėja, jog baltymų grandinės gali būti sulankstytos (angl. *folded*) tam tikru būdu, įgyti erdvinės, vadinamąsias tretines, struktūras (3 pav.).

Baltymo struktūra pirmą kartą buvo nustatyta 1958 m. Johnas Kendrewas (Kendrew et al. 1958). Jis rašė, jog baltymas „mioglobinas yra komplikauta spiralinių vijų sistema, kartais einanti tiesiai, o kartais sukanti į kairę vėl nauja kryptimi dar labiau komplikauta ir

netaisyklinga, nei numatė ankstesnės baltymų struktūros teorijos“. Daugėjant duomenų apie baltymų struktūras paaikškėjo, jog baltymo funkcija susijusi ne tik su baltymo linijine seka, bet ir su baltymo erdvine struktūra. Ši teorija puikiai atitiko faktus, jog fiziniai ir/ar cheminiai veiksniai, tokie kaip karštis, druskų koncentracijos, rūgštinės/šarminės aplinkos pasikeitimas, sąlygoja tam tikrų baltymų veiklą. Dėl šių veiksnių įtakos suardoma erdvinė struktūra ir todėl prarandama baltymo funkcija.

Nauji baltymo struktūros tyrimai iškėlė ir naujus klausimus: kas lemia baltymų susilankstymą? Kokiu būdu baltymai įgyja tik jiems būdingą erdvinę struktūrą? Kodėl sekos, turinčios panašią aminorūgščių seką, panašiai susilanksto? Ar baltymo susilankstymą lemia tik jo aminorūgščių seka?

Teiginiui, jog baltymo prigimtinė (angl. *native* – apibrėžta erdvinė struktūra, kurią įgijęs baltymas atlieka savo funkcijas) struktūra yra užkoduota jo aminorūgščių sekoje, patvirtinti reikėjo kelių dešimtmečių įtempto teorinio ir eksperimentinio darbo. Didžiausius darbus šioje srityje nuveikė Cyrus Levinthalis, Rufus Lumry'is, Howardas Florey'us, Christianas Anfinsenas (Nobelio premija 1971 m.), Peteris Privalovas, Frederickas White'as, Edgaras

Haberis, Olegas Pticynas. Iš tiesų, baltymų susilankstymas yra grįžtamasis procesas. Pavyzdžiui, pakėlus temperatūrą, baltymas išsilankstys, bet gražinus buvusias sąlygas, vėl susilankstys – atsistatys buvusi, prigimtinė struktūra. Susilankstymo proceso grįžtamumas rodo, jog baltymo prigimtinė struktūra užkoduota jo pirminėje aminorūgščių sekoje. Nustatyti baltymo struktūrą svarbu dėl praktinių priežasčių: įgyvendinant didelius projektus, pavyzdžiui, Žmogaus Genomo, sukaupia daug informacijos apie žmogaus DNR sekas, kurias reikia interpretuoti funkcijos požiūriu. Būtų naudinga numatyti prigimtines baltymų struktūras, nes eksperimentiškai nustatyti, kokią funkciją atlieka naujas identifiukuotas baltymas, trunka pakankamai ilgai ir kainuoja brangiai. Individualių baltymų struktūrų, o kartu jų funkcijų numatymas leidžia detalai apibūdinti cheminį procesą, kurį naudodami šie baltymai atlieka savo funkcijas. Toks tyrimas yra neatsiejama biofarmacijos pramonės dalis kuriant naujus vaistus, atliekant vaistų taikinių paiešką.

**Laštelės „egzistencinis rūpestis“.** Baltymų struktūros sprendimui pasitelkiamas visas šiuolaikinis arsenalas technologinių priemonių, įskaitant algoritmus. Tačiau klausimas, kaip baltymas spontaniškai suformuoja struktūriškai apibrėžtą biologiškai aktyvią struktūrą, lieka atviras. Kodėl iki šiol neatrastas universalus susilankstymo kodas ar algoritmas, numatantis susilankstymo eigą ir jo rezultatą nuo linijinės grandinės iki prigimtinės baltymo struktūros? Galima teigti, jog visi algoritmai pateikia pernelyg supaprastintą vaizdą ypač sudėtingo laštelėje vykstančio proceso. Baltymų susilankstymo procesas laštelėje (*in vivo*) vyksta labai greitai. Bakterijų laštelėje baltymo sintezės greitis yra apie 20 aminorūgščių per sekundę, žmogaus laštelėje – apie 5 kartus lėtesnis. Susilankstymas yra specifinis procesas, o žmogaus genomus koduoja apie

35,000 skirtingų baltymų sekų; laštelėje tuo pačiu metu vyksta daugelio baltymų sintezė. Kiekvienas baltymas turi susilankstyti specifiškai ir rasti savo tikrąjį susilankstymo kelią greitai, paneigiant skaitlingas susilankstymo alternatyvas (Holm and Sander, 1996). Išsiaiškinti, kaip šis procesas vyksta, yra viena didžiausių modernios struktūrinės biologijos problemų.

Baltymų susilankstymas, kaip ir kiti laštelėje vykstantys procesai, atitinka „mažiausios energijos“ principą, t. y. susiformavusi prigimtinė baltymo struktūra yra struktūra, esamomis sąlygomis turinti mažiausią laisvąją energiją (Anfinsen, 1973). Tad baltymai susilanksto taupiai, mažiausiomis sąnaudomis.

Pagrindinis klausimas čia – per kiek laiko baltymas randa savo mažiausią energiją atitinkančią struktūrą? Tai tikrai sudėtingas procesas, nes yra nepaprastai didelis skaičius galimų baltymo struktūrų. Laštelėje baltymų susilankstymas vyksta ypač perkrautoje įvairiomis molekulėmis aplinkoje. Vyksmas čia panašus į keleivio pastangas sausakimšame autobuse, laikant rankose ryšulius, pereiti iš vieno autobuso galo į kitą. Taigi šioje perkrautoje aplinkoje reikalingas pagalbininkas, kuris „palydės“ baltymus ir užtikrins, kad įvyks toks baltymo susilankstymas, koks yra reikalingas laštelei. Tie pagalbininkai yra baltymai, vadinami šaperonais (angl. *chaperone* – jaunos mergaitės palydovas). Šaperonai aptinkami visuose organizmuose nuo bakterijų iki žmogaus, be to, jų koncentracija laštelėje yra didelė. Šaperonai veikia labai tikslingai ir sumaniai: jie atpažįsta tik tokius baltymus, kurių struktūra dar neatitinka prigimtinių, rišasi su tokiais baltymais ir padeda jiems struktūrintis.

Šiame sumanyme išryškėja laštelės „egzistencinis rūpestis“ baltymais, turinčiais anomalias struktūras. Baltymai nėra labai stabilūs esinys. Lašteles paveikus aukšta temperatūra, sunkiaisiais metalais, tam tikrais antibiotikais,

baltymų struktūros pažeidžiamos, todėl baltymas paranda savo funkcijas. Ląstelėje ima kauptis nestruktūrinti baltymai, kurių agregatai, santaupos gali būti mirtini ląstelei. Todėl ląstelės labai tikslingai panaudoja savo energijos dalį užtikrinti, kad baltymai būtų tinkamai sintetinami, struktūrinami ir nukreipiami į atitinkamas ląstelės dalis. Jeigu įvyksta taip, kad baltymai paranda savo prigimtinę struktūrą, ląstelė turi sukūrusi mechanizmus, kurie užkerta kelią nestruktūrintiems baltymams – sankauptoms, agregatams – susidaryti: baltymai iš naujo suvyniojami, dalyvaujant šaperonams, o jei reikia, sunaikinami. Nenuostabu, jog šie mechanizmai susiformavo pačioje evoliucijos aušroje, nes tik jie padėjo ląstelėms įveikti pažaidas, atsiradusias dėl fizikinių ir cheminių veiksnių, kitaip tariant, padėjo prisitaikyti. Organizmui senstant ar turint įgimtas mutacijas, ląstelės apsaugos sistemos sukurtieji mechanizmai ima nebeveikti, ir pačioje ląstelėje arba už jos ribų pradeda kauptis nestruktūrinti baltymai. Nustatyta, jog anomalios struktūros baltymai, jų sankauptos vaidina pagrindinį vaidmenį neurodegeneratyvių (Alzheimerio, Parkinsono, Jakobo-Kreutzfeldo) ir kai kurių įgimtų (Huntingtono, cistinės fibrozės) ligų patogenezėje.

Sudėtinga sukurti algoritmą, numatantį vi-

sas sąlygas, kurios yra *in vivo* baltymo susilankstymo metu. Tačiau galima numanyti, jog panašios baltymų sekos sąveikau su tais pačiais šaperonais, kurių veikiami baltymai įgis tokią pačią erdvinę struktūrą. Tuomet galimi struktūriniai palyginimai manant, jog baltymai susilankstys tomis pačiomis sąlygomis, t. y. esant tai pačiai temperatūrai, druskų koncentracijai ir pan. Įmanoma sukurti išsamų teorinį modelį aminorūgščių sekai, jeigu būtų žinoma baltymo, turinčio panašią aminorūgščių seką, struktūra. Kai kurių baltymų struktūrai nustatyti sugaištama apie 10 metų, nes eksperimentiniam struktūros nustatymui branduoliniu magnetinio rezonanso ar X-ray kristalografijos metodais reikia gauti baltymo kristalus, o tai yra ne visada lengvas uždavinys.

Nepaisant gyvybės formų įvairovės gamtoje, paskutiniuosius tris dešimtmečius baltymų susilankstymo problema, tarpusi grynai teorinių, akademinų samprotavimų plotmėje, pasidarė gyvybiškai būtina, norint suprasti mechanizmus, sukeliančius atsitiktinius nukrypimus nuo baltymų struktūrų tikslingo funkcionavimo, nustatyti ligų kilmę ir nubrėžti jų įveikimo kelius, siekiant išmokti patiemis konstruoti baltymų susilankstymo kelius manipuliavimo ląstele tikslais.

## LITERATŪRA

Anfinsen, C. B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 181: 223–230.

Holm, L., Sander, C. (1996). Mapping the protein universe. *Science* 273: 595–603.

Kendrew, J., Bodo, G., Dintzis, H. M., Parrish, R. G., Wyckoff, H., Phillips, D. C. (1958). A three-

dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature* 181: 662–666.

Sanger, F., Tuppy, H. (1951). The amino-acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. I. The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochem. J.* 49:463–81.

## THE ORDER OF THE LIFE CODE

**Milda Pleckaitytė**

### Summary

The article describes the biochemical mechanisms of the cell showing their complex but economic action and purposive activity. The classical example of such sophisticated phenomenon is protein folding. Any deviation from the native structure of a protein results in the development of a disease or becomes incompatible with life. Most neurodegenerative diseases (Alzheimer, Parkinson, Jakob-Creutzfeld) are suggested as protein aggregation and conformational diseases. Proteins are the workhorses of living organisms, executing the genetic code inscribed in its DNA. The proteins' complexity is realized by 20 amino acids. The same proteins are not similar not only by their amino acid composition, but also by the sequence of their amino acids. The first idea

about protein folding came with the observation that regardless of unaffected chemical integrity, at high temperatures proteins lose their enzymatic activity. Protein function is a consequence of not only the linear sequence, but also of the overall three-dimensional structure of the protein. By executing the Human Genome Project, more than 35,000 different protein sequences encoded in the human genome were identified. A newly synthesized protein sequence must be able to find its way rapidly to its correct fold rather than to its countless alternatives. To discover how this happens is one of the greatest challenges in modern structural biology.

**Key words:** proteins, folding, purposive activity, native structure, low input.

*Įteikta 2008 05 28*