Введение в организацию белковой структуры и молекулярное моделирование

- Основы организации белковой структуры
- Молекулярная Динамика (MD)
- Броуновская Динамика (BD)

Сентябрь, 2006

Научный Университет Токио, Тадаси Андо

Проблематика самоорганизации структуры белка

“Предсказание трехмерной структуры белка по его аминокислотной последовательности.”

“Каким образом белковая молекула самостоятельно организуется в свою третичную структуру?”

С середины прошлого столетия на этот вопрос еще не дан ответ

свои третичные структуры спонтанно

В растворах белковые молекулы самостоятельно организуются в трехмерные формы

Конечная трехмерная форма белка зависит от уровня минимальной свободной энергии системы «белок – растворитель». (Постулат Анфинсена)

Если мы сможем точно вычислить энергию системы, тогда можно установить трехмерную структуру белка!

Парадокс Левинтала

Можем предположить, что для каждой аминокислоты существует три варианта ее состояния в белке (α-спираль, β-слой и клубок). Если белок состоит из 100 аминокислот (аминокислотных остатков), тогда общее количество вариантов состояний будет:

$$3^{100} = 515377520732011331036461129765621272702107522001 \doteqdot 5 \times 10^{47}.$$

Если требуется только 100 пс (10^{-10} с) для перехода из одного состояния в другое, тогда на перебор всех вариантов уйдет

$$5 \times 10^{47} \times 10^{-10} \text{ с} \doteqdot 1.6 \times 10^{30} \text{ лет.}$$

А, сворачивание аминокислотной последовательности в третичную структуру происходит за время, измеряемое миллисекундами. Таким образом, белки самоорганизуются не через случайный подбор вариантов, а используют более изощренный путь.

Мы хотим проследить процесс сворачивания белка в третичную форму, используя технологию молекулярного моделирования.

Почему “Самоорганизация структуры белка” так важна?

- Белки играют важные роли в живых организмах.
- Некоторые белки напрямую связаны с заболеваниями. Информация о структуре белка необходима, чтобы объяснить и определить его функцию, а также, чтобы создать молекулу, которая бы связывалась с этим белком, если это необходимо в стратегии лечения.
- На сегодня, полностью расшифрованы геномы (полные наборы генов) разных организмов и мы понимаем, что функции многих генов нам до сих пор неизвестны, а часть связана с разными заболеваниями.
- Таким образом, знание процесса самоорганизации белка поможет нам исследовать функции этих генов, и создать эффективные лекарства против связанных с ними заболеваний.
- В добавление к этому, это понимание покажет нам путь к созданию белков, у которых будут совсем новые функции, например, как новые наномашины.

Почему проблема “Самоорганизации структуры белка” так сложна?

С точки зрения компьютерного моделирования,

1. Сложно моделировать весь процесс самоорганизации белковой молекулы на уровне атомов, даже используя самые современные компьютеры.
2. Пока не ясно, достаточна ли точность параметров и значений функций энергии для моделирования процесса самоорганизации белка или нет.

…, позвольте мне пересказать диалог с Фрэнсисом в 1975 (который получил Нобелевскую премию за открытие структуры ДНК). Крик (Crick) утверждал, что «очень сложно предположить научную проблему, которая не будет решена за следующие 20 лет … кроме модели работы мозга и процесса самоорганизации белка". Хотя Крик был более заинтересован в функциях мозга, он отметил обе проблемы, потому что они являются сложными из-за того, что в них участвует масса взаимодействий в трехмерном пространстве.

(Levitt M, “Through the breach.” *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1996, **1**, 193-194)

Молекулярная Динамика (MD)

В модели молекулярной динамики, мы имитируем движение атомов как функцию от времени на основе уравнений движений Ньютона. Уравнение для системы из *N* атомов выглядит так

$$m_i \frac{\mathrm{d}^2 \mathbf{r}_i(t)}{\mathrm{d}t^2} = \mathbf{F}_i(t), \qquad (i = 1, 2, \cdots, N). \tag{1}$$

Где, $\mathbf{r}_i$ и m_i это положение и масса атома i , а $\mathbf{F}_i(t)$ это функция силы на атом i по времени t. $\mathbf{F}_i(t)$ описывается так:

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_i V(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \cdots, \mathbf{r}_N), \tag{2}$$

где $V(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \ldots, \mathbf{r}_N)$ потенциальная энергия системы, которая зависит от положения N атомов в системе. ∇_i это

$$\nabla_i = \boldsymbol{i} \frac{\partial}{\partial x} + \boldsymbol{j} \frac{\partial}{\partial y} + \boldsymbol{k} \frac{\partial}{\partial z} \tag{3}$$

Интегрирование с использованием метода конечной разности

Положения в моменты времени ($t + \Delta t$) и ($t - \Delta t$) могут быть выражены через формулы Тэйлора для момента времени t,

$$\mathbf{r}_i(t+\Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \dot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2 + \frac{1}{6}\dddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^3 + O\left(\Delta t^4\right), \qquad (4a)$$

$$\mathbf{r}_i(t-\Delta t) = \mathbf{r}_i(t) - \dot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2 - \frac{1}{6}\dddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^3 + O\left(\Delta t^4\right). \qquad (4b)$$

Сумма двух выражений:

$$\mathbf{r}_i(t+\Delta t) + \mathbf{r}_i(t-\Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2 + O\left(\Delta t^4\right). \qquad (5)$$

Используя формулу (1), получаем:

$$\mathbf{r}_i(t+\Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t-\Delta t) + \frac{1}{m_i}\mathbf{F}_i(t)\Delta t^2 + O\left(\Delta t^4\right). \qquad (6)$$

Мы должны последовательно рассчитывать по формуле (6), чтобы получить траектории атомов в системе. (алгоритм Верлета).

процессе с а м о о р г а н и з а ц и и белковой молекулы

- Электростатические взаимодействия
- Силы Ван дер Ваальса
- Водородные связи
- Гидрофобные взаимодействия

(Гидрофобные молекулы в водном растворе соединяются друг с другом, так как молекулы воды их отталкивают. Это как разделение в слое масло/вода. Присутствие воды для этих взаимодействий является важным фактором.)

Функции от составляющих сил, рассчитываемые в Молекулярном Моделировании

Энергия сжатия-растяжения связи

Угловое взаимодействие

Межплоскостное взаимодействие

$$V_{\text{total}} = \sum_{\text{bonds}} K_b (r - r_0)^2 + \sum_{\text{angles}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} K_\phi \left[1 + \cos(n\phi - \gamma)\right]$$

$$+ \sum_{\text{Hbonds}} \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + \boxed{\sum_{\substack{\text{van der Waals} \\ i,j \text{ pairs}}} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{6}} \right) + \sum_{\substack{\text{electrostatic} \\ i,j \text{ pairs}}} \frac{q_i q_j}{\varepsilon r_{ij}}}$$

Самая тяжелая расчетная часть.

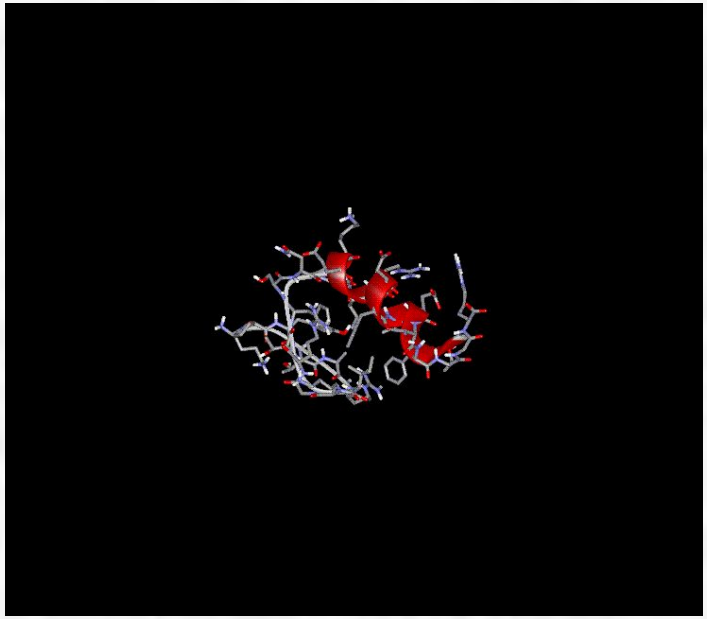
Водородная связь

Сила Ван дер Ваальса

Электростатическая сила

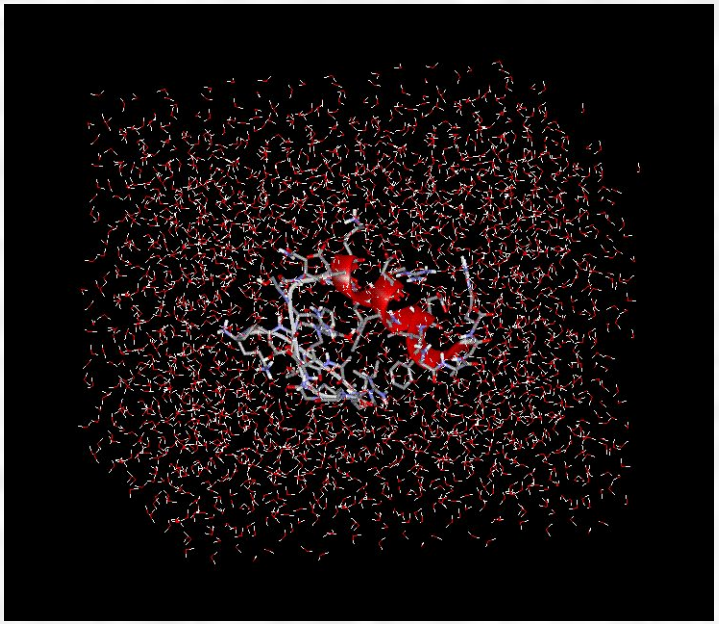
Система для Моделирования с помощью Молекулярной Динамики

Без молекул воды



Кол-во атомов: 304

С молекулами воды



Кол-во атомов: 304 + 7,377 = 7,681

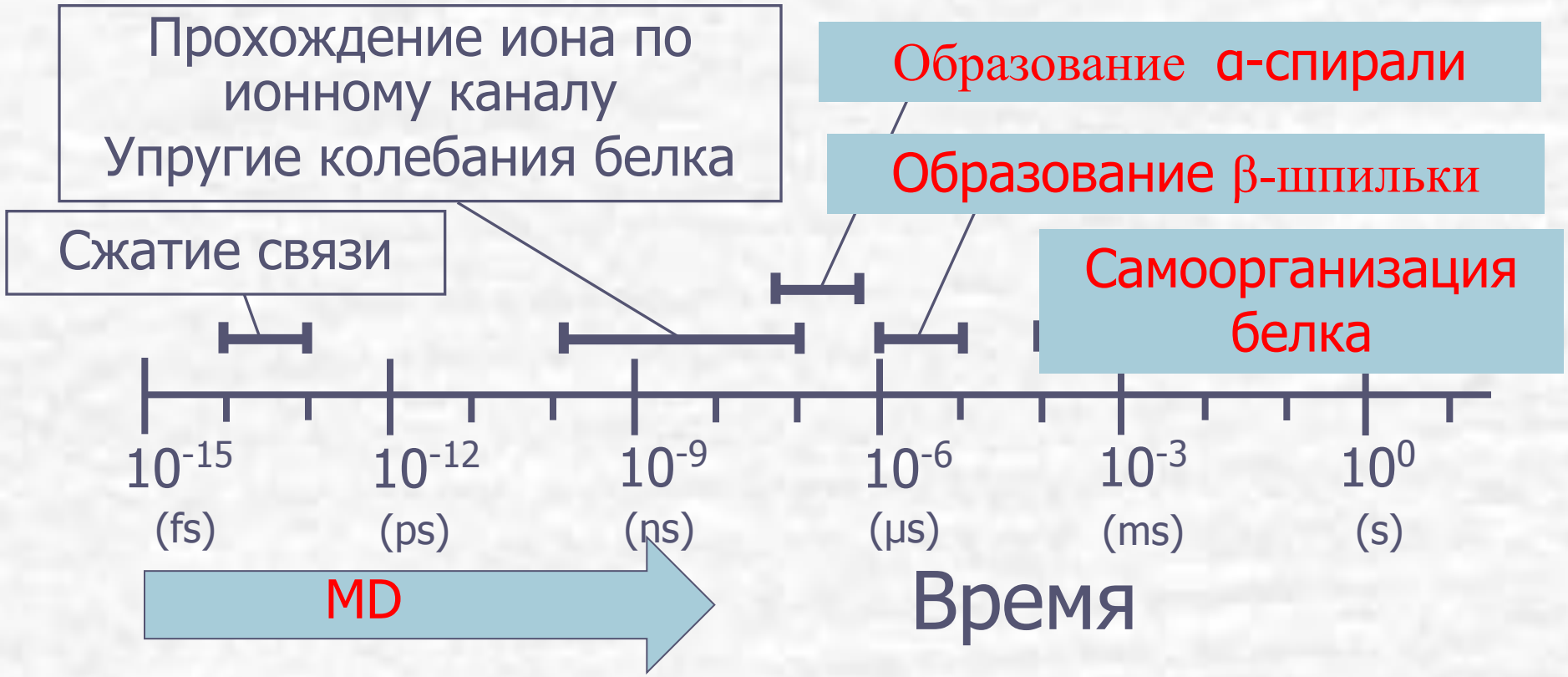
MD требует колоссальных вычислительных мощностей

- Квант времени в методе MD (Δt) ограничен 1 фсек (10^{-15} сек).
  ← Размер Δt должен составлять приблизительно одну десятую от длительности самого быстрого изменения в системе. При моделировании белков, самое быстрое изменение, это изменение энергии сжатия-растяжения связи у легких атомов (например. O-H, C-H), и время этого изменения составляет примерно 10^{-14} сек, поэтому Δt обычно берется около 1 фсек.

- При биомолекулярном MD моделировании должно учитываться большое количество молекул воды.
  ← Количество атомных пар, учитываемых в расчетах взаимодействий (не считая химические связи, а только силы Ван дер Ваальса и электростатические силы) увеличивается по формуле N^2 (где N это количество атомов).

Сложно моделировать длительный процесс. Обычно, выполняется расчет на несколько десятков наносекунд.

Шкала времени изменения состояний белка и MD



Все еще трудно моделировать весь процесс самоорганизации (сворачивание) белка, используя традиционный MD метод.

Гораздо быстрее, Гораздо больше!

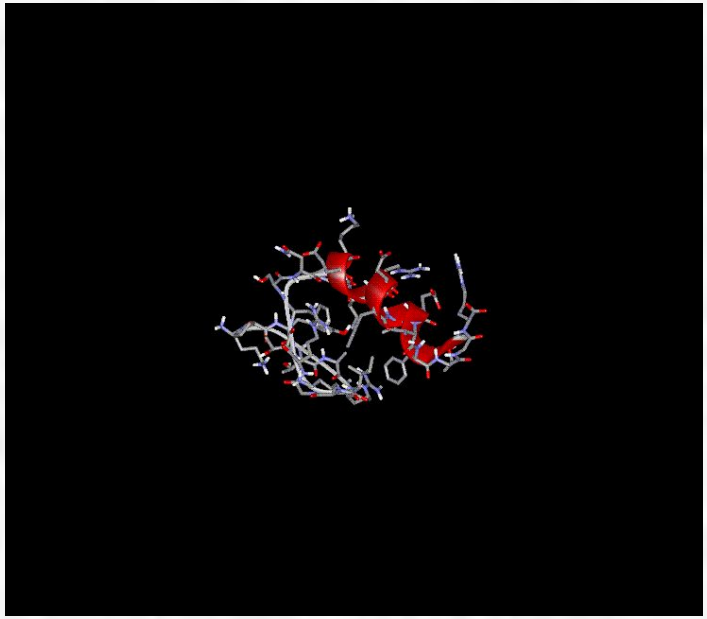
- Специальные компьютеры
  - Расчет свободных взаимодействий (не химических связей) обеспечивается с использованием специальных процессоров, разработанных для этих целей.
  - Например;
    - MDM (Машина Молекулярной Динамики) или MD-Grape: RIKEN
    - MD Engine: Taisho Pharmaceutical Co., and Fuji Xerox Co.
- Распараллеливание
  - Задача делится на несколько подзадачей и они обрабатываются каждая на своем процессоре. Сегодня, почти все MD программы для биомолекулярного моделирования (например: AMBER, CHARMm, GROMOS, NAMD, MARBLE, и т.д.) могут работать на параллельных машинах.

Броуновская Динамика (BD)

- Динамический вклад растворителя представлен в виде рассеянного случайного воздействия (Открытие Эйнштейна в 1905). Поэтому, молекулы воды могут не рассчитываться как каждая.
- С того момента как был создан BD алгоритм, с учетом того, что растворителя гораздо больше и эта энергия сглаживается за очень короткое время, стали возможны расчеты более длинных временных периодов.
- BD метод является более подходящим для продолжительного моделирования.

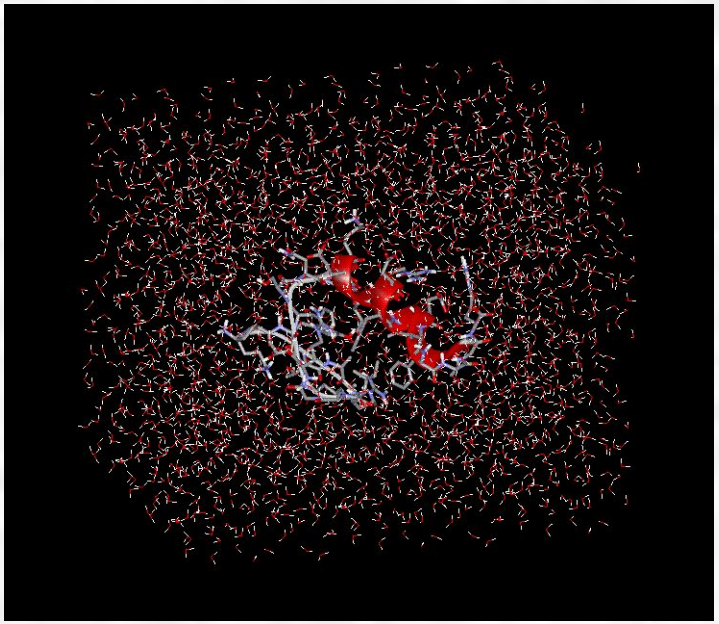
Система для BD Моделирования

Без молекул воды



Кол-во атомов: 304

С молекулами воды



Кол-во атомов: 304 + 7,377 = 7,681

Алгоритм BD

Уравнение Ланжевина может быть выражено так:

$$m_i \frac{\mathrm{d}^2 \mathbf{r}_i}{\mathrm{d}t^2} = -\zeta_i \frac{\mathrm{d}\mathbf{r}_i}{\mathrm{d}t} + \mathbf{F}_i + \mathbf{R}_i \qquad \textbf{(7)}$$

Здесь, $\mathbf{r}_i$ и m_i отражают соответственно положение и массу атома i. ζ_i это коэффициент трения, определяемый законом Стокса., то есть $\zeta_i = 6\pi a_i^{\mathrm{Stokes}}\eta$, где a_i^{Stokes} это Стоксовский радиус атома i , а η это вязкость воды. $\mathbf{F}_i$ это систематическое воздействие на атом i. $\mathbf{R}_i$ случайное воздействие на атом i , равное 0 $\langle \mathbf{R}_i(t) \rangle = 0$, а вариации $\langle \mathbf{R}_i(t)\mathbf{R}_j(t) \rangle = 6\zeta_i kT\delta_{ij}\delta(t)$; это выводится из свойств растворителя.

Для задемпфированного предела, левую часть уравнения **(7)** мы приравниваем 0,

$$\zeta_i \frac{\mathrm{d}\mathbf{r}_i}{\mathrm{d}t} = \mathbf{F}_i + \mathbf{R}_i \qquad \textbf{(8)}$$

Интегрированное выражение уравнения 8 называется Броуновская Динамика;

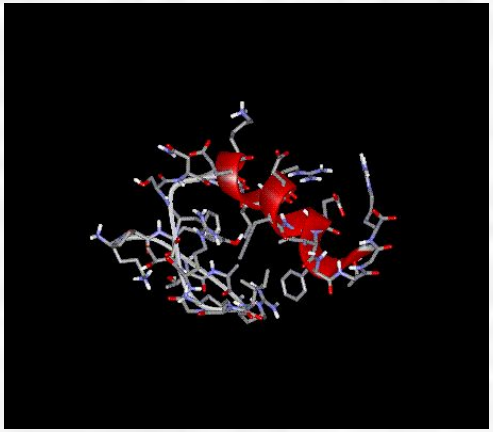
$$\mathbf{r}_i(t+\Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \frac{\mathbf{F}_i(t)}{\zeta_i}\Delta t + \sqrt{\frac{2k_{\mathrm{B}}T}{\zeta_i}\Delta t}\,\boldsymbol{\omega}_i \qquad \textbf{(9)}$$

где Δt это шаг времени, а $\boldsymbol{\omega}_i$ это случайный вектор помех, получающийся из распределения Гаусса.

Вычислительное время BD

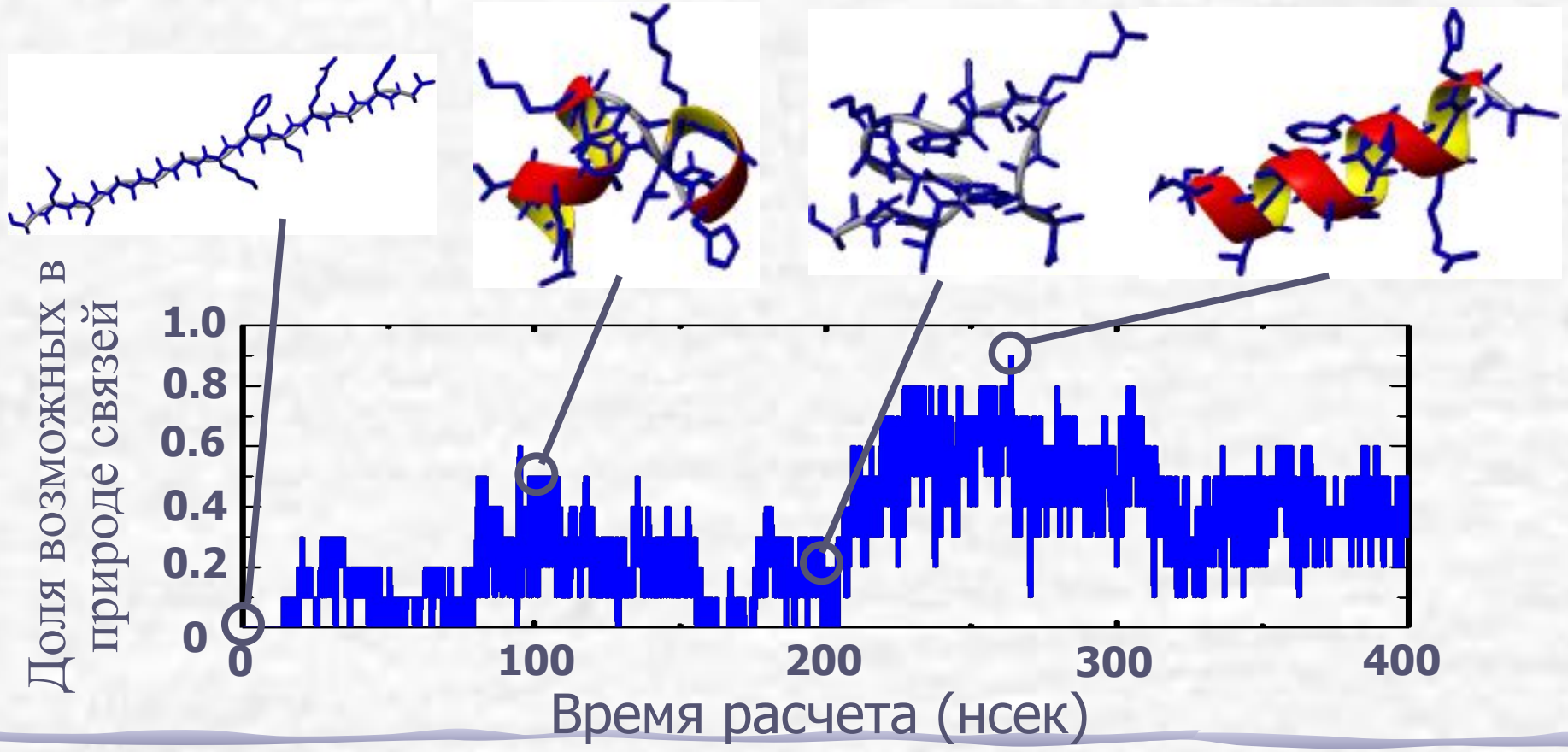
Вычислительное время, необходимое для моделирования 1 нсек изменений полипептида

Алгоритм	Компьютер	Кол-во атомов	Время (сек)	Эффективность
MD	Pentium 4 2.8 GHz	7,681	2,057	1.00
BD	Pentium 4 2.8 GHz	304	38.8	53.0
BD +MTS†	Pentium 4 2.8 GHz	304	12.8	161
BD +MTS†	IBM Regatta 8 CPU	304	3.4	605

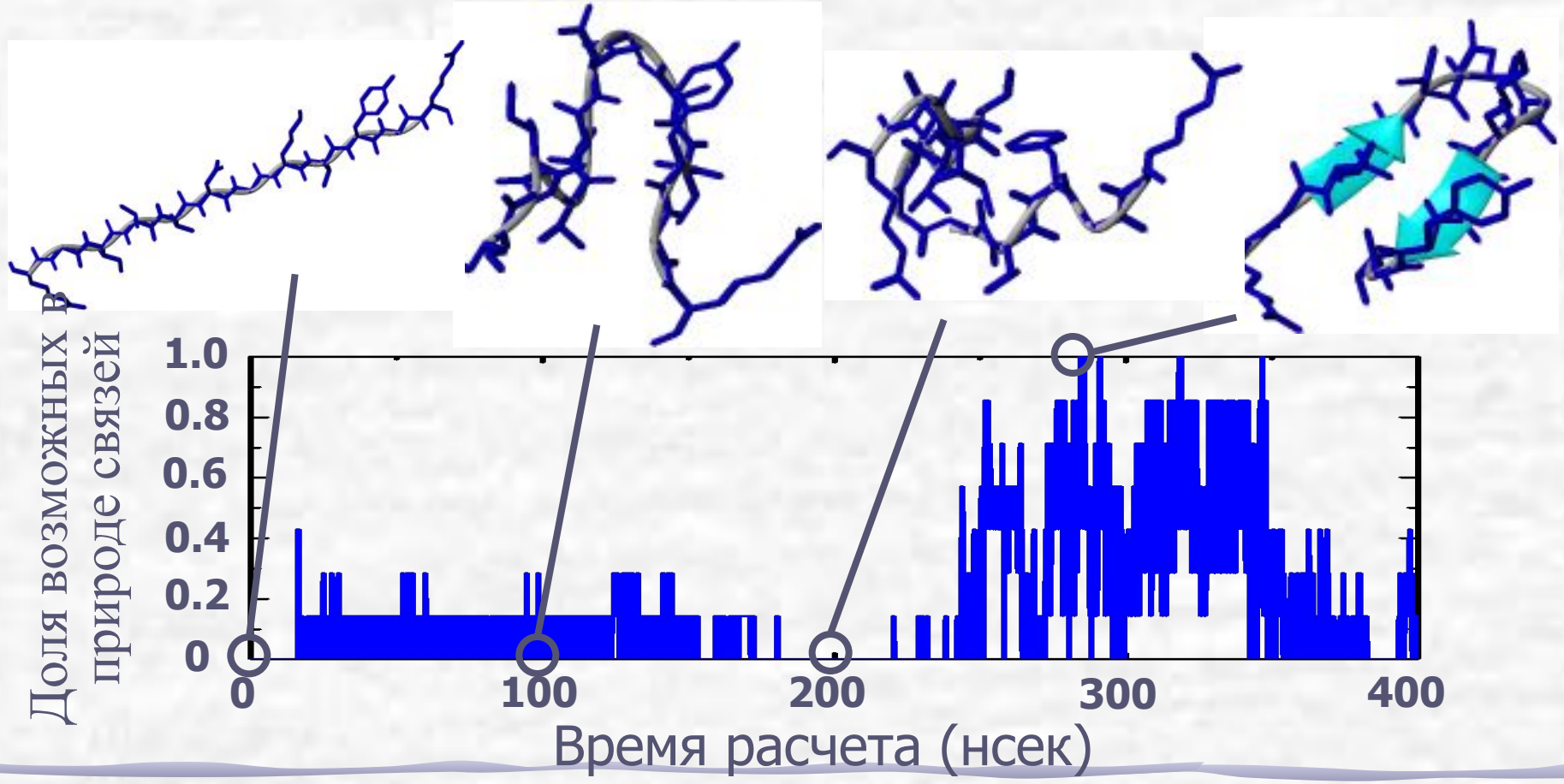


†MTS(Multiple time step) алгоритм: Этот метод позволяет уменьшить необходимость расчетов самой тяжелой части уравнения, расчет энергии свободных взаимодействий).

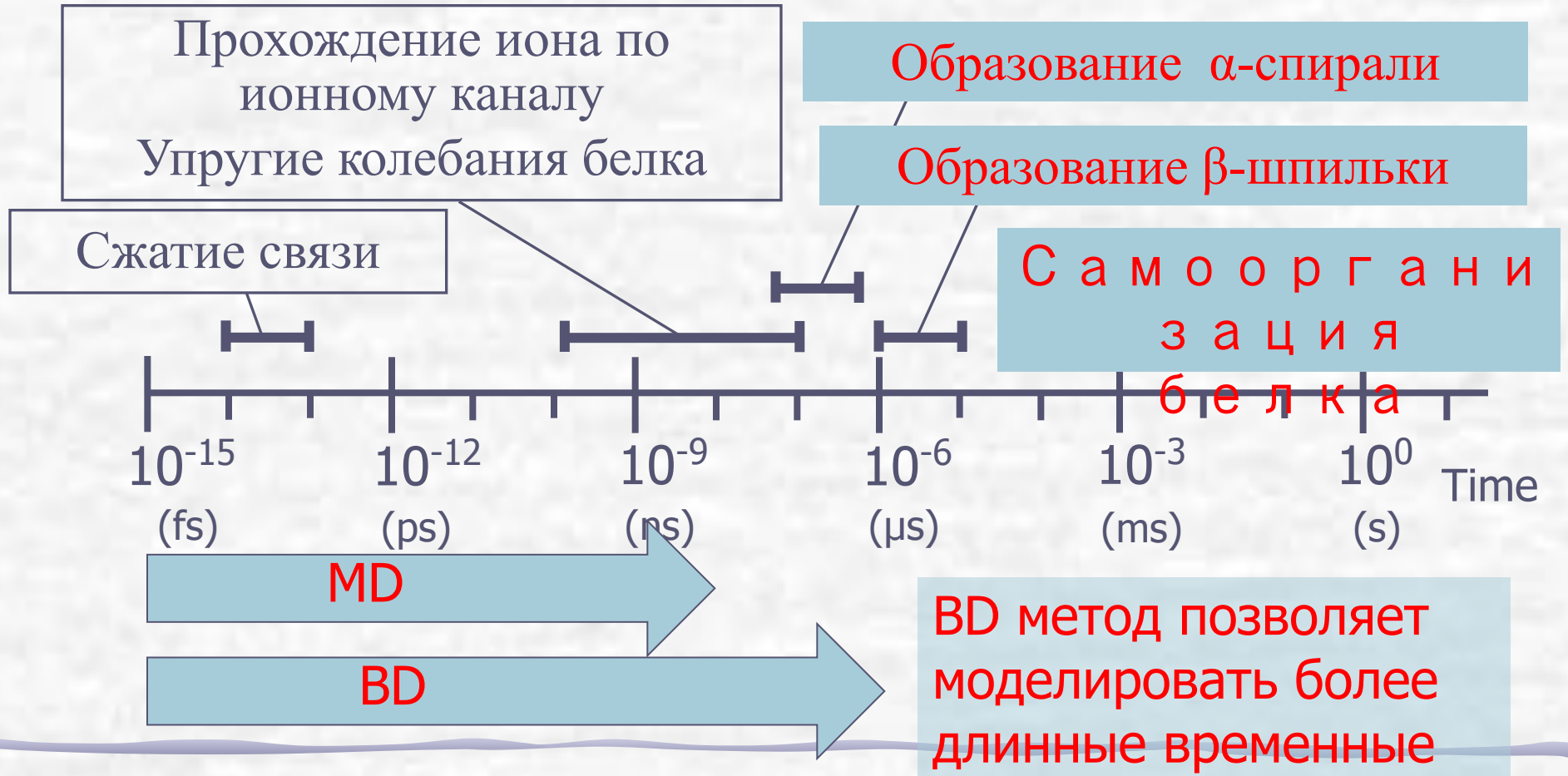
Моделирование образования α-спирали с помощью BD



Моделирование образования β-шпильки с помощью BD



Шкала времени изменения состояний белка и BD



BD метод позволяет моделировать более длинные временные процессы.

Заключение

- Проблема сворачивания молекулы белка является одной из исторических проблем в биологии. Решение проблемы откроет двери в новый период генетической биологии.
- В MD методе, Ньютоновские уравнения движения атомов системы используются в методе конечной разности.
- В MD методе, шаг времени ограничен примерно одной фсек, и является важным детальный расчет воздействия молекул воды. В связи с этим процесс моделирования длинных периодов является сложным.
- С другой стороны, процесс самоорганизации белка совершается за период от мсек до одной секунды.
- Создание алгоритмов распараллеливания и специально созданные компьютеры позволяют моделировать большие модели и гораздо быстрее.
- BD метод является более подходящим для моделирования длинных периодов.