

Рис. 4. Распределение катионов натрия и анионов хлора (синие и красные линии) вблизи поверхности мембраны. Концентрация ионов, рассчитанная по классической теории Гуи-Чапмена, изображена пунктирными линиями

По данным молекулярной динамики были рассчитаны коэффициенты латеральной диффузии ионов SkQ, а также других компонентов мембраны. Было показано, что коэффициент диффузии SkQR1 ($1.5 \cdot 10^{-7}$ см²/сек) в пятнадцать раз превышает подвижность иона SkQ1 ($1 \cdot 10^{-8}$ см²/сек). Столь сильное различие в подвижности обусловлено тем, что катион SkQ1 сильнее взаимодействует с фосфатными группами липида, тогда как взаимодействие катиона родамина SkQR1 с фосфатными группами ослаблено из-за больших размеров сопряженного кольца родамина. Данная особенность иона SkQR1 имеет важные последствия для его использования в качестве направленного митохондриального антиоксиданта.

На рис. 4 показана зависимость концентрации ионов вблизи поверхности мембраны: синим цветом изображена концентрация катионов натрия, красным — анионов хлора (концентрация в объеме на бесконечном удалении от мембраны принята за единицу). Распределение ионов хорошо соответствует классической теории Гуи-Чапмена (пунктирные линии). Детальный анализ показывает, что область распределения ионов натрия, компенсирующих отрицательный заряд поверхности мембраны, находится главным образом внутри самой полярной области расположения фосфатных групп мембраны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е. и др. // Биохимия. 2008. 73. С. 1589.
2. Hess B., Kutzner C., van der Spoel D. et al. // J. Chem. Theory Comput. 2008. 4. P. 435.
3. Научно-исследовательский вычислительный центр Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова (НИВЦ МГУ) – <http://www.srcc.msu.ru>
4. Severin F.F., Severina I.I., Antonenko Y.N. et al. // Proceed. Nat. Acad. Sci. USA. 2010. 107. P. 663.

Высокопроизводительные вычисления в биоинженерии



30 Высокопроизводительные вычисления в биоинженерии

Использование природных биокатализаторов-ферментов в различных отраслях хозяйства и производства бывает довольно часто затруднено. Однако многие модифицированные, биоинженерные ферменты лишены ряда недостатков своих природных аналогов. Одним из наиболее широко используемых методов изменения свойств белков является точечный мутагенез, но для его осуществления необходимо знать конкретные места для аминокислотных замен и иметь представления о последствиях таких изменений. Для получения этих данных и требуются вычисления на суперкомпьютерах. Примером активных исследований в этой области являются работы по улучшению свойств фермента, эффективно расщепляющего жиры при повышенных температурах.

АВТОРЫ:

М.С. Кондратьев – канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник, Ин-т биофизики клетки РАН, г. Пушино;
e-mail: ma-ko@bk.ru
А.В. Теплухин – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник, Ин-т математических проблем биологии РАН, г. Пушино;
e-mail: tepl@impb.psn.ru

Описание проблемы

В процессе хозяйственной деятельности человека, а также в ходе реализации производственных циклов на предприятиях многих отраслей промышленности постоянно образуются различные формы загрязнителей липидной природы, которые чрезвычайно трудно поддаются естественному разложению. Между тем многие живые системы обладают биокатализаторами (ферментами-липазами, рис. 1), которые отвечают за эффективное расщепление жиров. Особенно удобными для практического использования являются бактерии, так как они характеризуются не только способностью синтезировать липазы, доставлять их во внешнюю среду, но и высокими скоростями роста, а также способностью культивироваться в биореакторах, что в случае грибов или многоклеточных организмов представляется более сложным.

Биохимики уже давно установили, что расщепление жиров ферментами имеет несомненные преимущества по сравнению с химическим разложением. Подобные технологии могут находить применение в целом ряде отраслей – химической (производство стиральных порошков), текстильной, пищевой, а также в медицине. Однако массовому распространению липазных технологий мешает низкая стойкость ферментов и, как следствие, – быстрая потеря "работоспособности" в условиях высоких температур, которые сопровождают многие технологические процессы. Именно поэтому внедрение биоинженерно-модифицированных ферментов, лишенных недостатков, присущих своим природным аналогам, открывает путь не только к повышению эффективности расщепления жиров и удаления отходов на производствах, но и к экономии средств – например, при сокращении расходов на охлаждение обрабатываемого материала до «рабочих» температур ферментов.

Методы и технологии

Активность и термостабильность липаз, как и любых малых белков, зависит от их пространственного строения, которое, в свою очередь, определяется аминокислотным составом молекулы и последовательностью, в которой эти аминокислоты следуют друг за другом, образуя полимерную цепь. В результате взаимодействий друг с другом и атомами окружающего раствора аминокислоты занимают строго определенные позиции в пространстве, формируя трехмерную структуру белка-липазы. Управлять этим процессом можно путем осуществления аминокислотных замен, но вот только где, что, и на что менять – сразу не ясно.

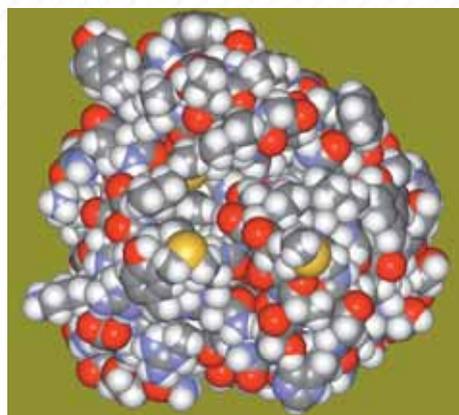


Рис. 1а.
Полноатомная модель молекулы жирорасщепляющего фермента-липазы. Атомы водно-ионного окружения не показаны

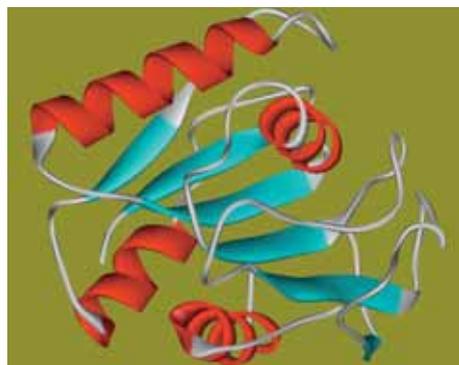


Рис. 1б.
Укладка элементов вторичной структуры аминокислотной цепи фермента-липазы

Конечно, можно случайно "угадать" — именно так и происходит в ходе эволюции. На практике же решение этой задачи представляет собой многостадийный процесс с использованием различных подходов и методов.

На первом этапе исследования тщательно изучается пространственное строение модели молекулы липазы (рис. 1), полученной на основе данных рентгеноструктурного анализа (2QXU, www.pdb.org). Используя широкий спектр данных о механизмах [1], управляющих термостабильностью белков, биофизики-биоинженеры устанавливают места для аминокислотных замен и типы вносимых атомных групп. Обычно рассматривается несколько альтернативных вариантов, каждый из которых изучается далее уже методами компьютерного моделирования с целью получения теоретических оценок термостабильности новой модификации белка, а также его субстратной специфичности.

Применение современных вычислительных методов позволяет рассмотреть поведение нативного фермента и всех вариантов его модификаций, как в изолированной форме, так и с учетом

водно-ионного окружения в растворе. Одним из результатов «экспериментов *in silico*» являются данные о подвижности боковых цепей каждого из аминокислотных остатков липазы, что позволяет судить об их вкладах в термодинамическую стабильность всей изучаемой молекулы на фоне общей картины теплового движения ее структурных элементов. Расчеты молекулярных систем такого размера требуют применения параллельных вычислений на суперкомпьютерах, поскольку даже минимальная модель, включающая в рассмотрение только одну молеку-

лу фермента в водно-ионном окружении, уже насчитывает до ста тысяч атомов. Дальнейшее рассмотрение взаимодействия ферментов между собой и с расщепляемыми липидами потребует расчетов систем, содержащих миллионы атомов.

Стадия компьютерных экспериментов с модификациями ферментов будет выполняться с применением нового подхода к моделированию, который обладает высокой масштабируемостью и не имеет формальных ограничений ни по размеру модели, ни по количеству атомов в исследуемом объекте [2]. Он основан на оригинальном алгоритме [3], позволяющем применять метод Монте-Карло одновременно для нескольких (определяется числом процессоров, задействованных в решении данной задачи) молекул или атомных групп. Для этого моделируемый объем представляется в виде совокупности кубов меньшего объема, образующих регулярную пространственную решетку. Каждый из процессоров занят расчетами движения молекул "своего" куба, периодически обмениваясь необходимыми данными с "соседними" (в пространстве моделируемой ячейки) процессорами о перемещениях молекул как внутри кубов, так и между ними. Эффективность вычислений можно существенно повысить, используя «поатомную декомпозицию» при расчетах энергии взаимодействия частиц каждого куба между собой и с частицами соседних кубов, введя для этого вспомогательный массив процессоров.

Проанализировав несколько вариантов модификаций исходного белка, исследователи останавливаются на теоретически наиболее эффективном и передают его "чертежи" биохимикам. Экспериментальная часть работы состоит в использовании целого набора методик молекулярной биологии и биофизики. Предстоит получение рекомбинантной ДНК, по которой будут *in vitro* синтезированы модифицированные ферменты. Далее образцы будут подвергнуты хроматографической очистке и контролю их вторичной структуры методом КД-спектроскопии. На следующих этапах исследования модифицированные ферменты будут проверяться на активность и термостабильность. Заключительной же частью работы является получение бактериального штамма, содержащего ген наиболее активного липолитического фермента с повышенной термостабильностью.

Перспективы

Фермент, в разработке новой модификации которого самое активное применение нашли высокопроизводительные компьютерные вычисления, будет использован в составе моющих средств или промышленных катализаторов рас-

щепления жиров. Выработанная же методика повышения термостабильности молекул впоследствии может быть применена к другим ферментам — например, к высокоактивным антиоксидантам или «расщепителям» пластика.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Khechinashvili N.N., Fedorov M.V., Kabanov A.V., Monti S., Ghio C., Soda K.* Side chain dynamics and alternative hydrogen bonding in the mechanism of protein thermostabilization // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2006. V.24. P. 255–262.
2. *Калугин М.Д., Теплухин А.В.* Изучение взаимодействия кофеина с ДНК в водном растворе методом Монте-Карло с использованием параллельных вычислений // *Ж. структурной химии.* 2009. Т.50, № 5. С.878–889.
3. *Теплухин А.В.* Многопроцессорное моделирование гидратации мезоскопических фрагментов ДНК // *Математическое моделирование.* 2004. Т. 16, №11. С.15–24.

Применение суперкомпьютеров для определения городских районов — загрязнителей атмосферного воздуха

