

- 9) a) J. Caillat et al., Phys. Rev. A 2005, 71, 012712;
 b) O. E. Alon, A. I. Streltsov, L. S. Cederbaum, J. Chem. Phys. 2007, 127, 154103;
 c) M. Nest, T. Klamroth, P. Saalfrank, J. Chem. Phys. 2005, 122, 124102.
- 10) M. Ben-Nun, T. J. Martinez, Adv. Chem. Phys. 2002, 121, 439.
- 11) a) G. A. Worth, I. Burghardt, Chem. Phys. Lett. 2003, 368, 502;
 b) Y. Wu, V. S. Batista, J. Chem. Phys. 2006, 124, 224305;
 c) D. V. Shalashilin, M. S. Child, J. Chem. Phys. 2004, 121, 3563.
- 12) B. Lasorne, M. Robb, G. A. Worth, Phys. Chem. Chem. Phys. 2007, 9, 3210.
- 13) L. Mühlbacher, E. Rabani, arXiv.org arXiv:0707.0956v1.
- 14) M. Schroeder, U. Kleinekathöfer, M. Schreiber, J. Chem. Phys. 2006, 124, 084903.
- 15) Y. Tanimura, J. Phys. Soc. Jpn. 2006, 75, 082001.
- 16) a) M. Gelin, D. Egorova, W. Domcke, J. Chem. Phys. 2005, 123, 164112;
 b) B. Strodel, G. Stock, J. Chem. Phys. 2006, 124, 114105.
- 17) B. Brüggemann, T. Pulleritis, V. May, J. Photochem. Photobiol. A 2007, 190, 372.
- 18) a) T. Renger et al., J. Phys. Chem. C 2007, 111, 10487;
 b) Y.-C. Cheng, H. Lee, G.R. Fleming, J. Phys. Chem. A 2007, 111, 9499.
- 19) G. Paramonov et al., Phys. Rev. B 2007, 75, 045405.
- 20) C. F. Craig, W. R. Duncan, O. V. Prezhdo, Phys. Rev. Lett. 2005, 95, 163001.
- 21) a) M. Barbatti et al., J. Photochem. Photobiol. A 2007, 190, 228;
 b) E. Tapavica, I. Tavernelli, U. Rothlisberger, Phys. Rev. Lett. 2007, 98, 023001.
- 22) P. R. L. Marwick, N. Doltsinis, J. Chem. Phys. 2007, 126, 175102.
- 23) G. Granucci, M. Persico, Theor. Chem. Acc. 2007, 117, 1131.
- 24) G. Stock, M. Thoss, Adv. Chem. Phys. 2005, 131, 243.
- 25) P. V. Parandekar, J. C. Tully, J. Chem. Phys. 2005, 122, 094102.
- 26) R. Kapral, Annu. Rev. Phys. Chem. 2006, 57, 129.
- 27) K. G. Kay, Annu. Rev. Phys. Chem. 2005, 56, 255.
- 28) W. H. Miller, J. Chem. Phys. 2006, 125, 132305.
- 29) X.G. Song, T. Van Voorhis, J. Chem. Phys. 2006, 124, 134104.
- 30) E. Martin-Fierro, E. Pollak, J. Chem. Phys. 2006, 125, 164104.
- 31) a) A. Nakayama, N. Makri, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2005, 102, 4230;
 b) J. Liu, W. H. Miller, J. Chem. Phys. 2007, 127, 114506.
- 32) N. I. Hammer, E. G. Diken, J. R. Roscioli, E. M. Myshakin, K. D. Jordan, A. B. McCoy, X. Huang, S. Carter, J. M. Bowman, M. A. Johnson, J. Chem. Phys. 2005, 122, 244301.

Biomolekulare Simulationen

◆ Die Ende der 50er Jahre des letzten Jahrhunderts entwickelte Methode der Moleküldynamik- (MD)-simulation wurde erstmals 1977 für ein biomolekulares System eingesetzt. Ziel war es, die Dynamik des Proteins BPTI auf der Zeitskala von einigen Pikosekunden zu simulieren.

Begünstigt durch den Anstieg der Rechnerleistung sowie durch verbesserte empirische Kraftfelder und Simulationsalgorithmen haben sich MD-Simulationen seither als Standardwerkzeug etabliert – sowohl in der computergestützten Chemie als auch in der theoretischen Biophysik und der strukturellen Bioinformatik.^{1,2)}

MD-Simulationen hatten einen besonderen Anteil daran, dass die Rolle der Proteindynamik heute allgemein anerkannt ist. Wichtige Beiträge liefern MD-Simulationen außerdem bei der Untersuchung der Proteinfaltung und von biomolekularen Interaktionen sowie, in Kombination mit quantenmechanischen Verfahren, bei der Untersuchung von enzymatischen Reaktionen, bei denen Bindungen aufgebrochen und gebildet werden (siehe *Nachr. Chem.* 2007, 55, 317).

Proteindynamik

◆ Seit jeher ein Haupteinsatzgebiet von MD-Simulationen ist die Beschreibung der Dynamik biomolekularer Systeme (Eiweißmoleküle, DNA und RNA) auf schnellen Zeitskalen. Heute sind routinemäßig Simulationen von etwa 100 Nanosekunden Dauer für ein Proteinmolekül mittlerer Größe in einer Wasserbox möglich. Auf 32 Prozessoren eines parallelen PC-Clusters dauert eine solche Simulation ungefähr eine Woche. Auf der Nanosekundenzeitskala lässt sich etwa die Konformationsdynamik von Schleifen auf der Proteinoberfläche und Relativbewegungen von α -Helices betrachten oder die Passage von Wassermolekülen durch die Membranpore Aqua-

porin.³⁾ Eine Simulationsstudie zeigte zum Beispiel, dass mehrere Isoleucin- und Leucinseitenketten im Inneren des dicht gepackten menschlichen Ubiquitinproteins keineswegs, wie durch die Kristallstruktur vermittelt, in jeweils einen Rotamerzustand eingefroren sind, sondern durch koordinierte Rotationen benachbarter Aminosäurereste ständig zwischen mehreren energetisch erlaubten Zuständen hin und her wechseln.⁴⁾ Proteine sind in ihrem Inneren also nicht fixiert.

Mit gewöhnlichen MD-Verfahren ist man auf solche Vorgänge beschränkt, die natürlich auf derart schnellen Zeitskalen ablaufen. In Simulationen lässt sich das System jedoch gezielt manipulieren, so dass zum Beispiel Konformationsübergänge schneller als natürlich erlaubt ablaufen. Dies zeigte 1995 Grubmüller in seiner Conformational-flooding-Methode.⁵⁾ Kürzlich griff die Arbeitsgruppe von McCammon mit ihrer Accelerated-MD-Methode dieses Prinzip wieder auf.⁶⁾ Hierbei wird die Potenzialfunktion $V(r)$ modifiziert, sobald ihr Wert den einer Boost-Energie E_b unterschreitet:

$$V^*(r) = V(r) + \frac{(E_b - V(r))^2}{\alpha + (E_b - V(r))}$$

Andernfalls bleibt die Potenzialfunktion unverändert. Dieses Auffüllen der Energieminima bewirkt ein erheblich beschleunigtes Sampling der Konfigurationen. Man kann die so erhaltene Dynamik anschließend wieder auf die korrekte Dynamik zurück korrigieren. Durch einen Vergleich mit NMR-Daten zeigte sich für das Protein GB3, dass accelerated MD dynamische Prozesse beschreiben kann, die auf der Millisekundenzeitskala ablaufen.⁷⁾ Die Methode ist offensichtlich besonders geeignet, Prozesse zu beschleunigen, bei denen Bindungen lokal umklappen.

Protein-Ligand-Wechselwirkung

◆ Docking-Verfahren lassen sich noch erfolgreicher einsetzen, wenn verschiedene Konformationen des Proteins für das Docking verwendet

werden. Dies können Schnappschüsse aus MD-Simulationen sein, die Seitenketten des aktiven Zentrums in verschiedenen Konformationen zeigen. Diese Effekte der Proteindynamik wirken sich aber auch auf die Konformation von Protein-Protein-Schnittstellen aus, die, obwohl sie oft eine recht flache Oberfläche zeigen, seit einigen Jahren als Targets für die Bekämpfung von Krankheiten gelten. Die Familie der Nutlin-Moleküle inhibiert beispielsweise die Interaktion des Zellzyklus-Regulatorproteins p53 mit dem Protein MDM2 und dämmt dadurch die Vermehrung von Krebszellen in Mäusen ein.⁸⁾ Schnappschüsse aus MD-Simulationen für die ungebundenen Proteine erzeugen transiente Taschen an der Oberfläche, in welche die nativen Inhibitoren der Protein-Interaktion mit weniger als 0,2 nm Abweichung hineingedockt werden (Abbildung 1).⁹⁾

Die in den 90er Jahren entwickelten Methoden zur Berechnung der freien Bindungsenthalpie aus MD-Simulationen werden auch als Computational Alchemy bezeichnet.¹⁰⁾ Während die damals möglichen relativ kurzen Simulationszeiten nur die Berechnung relativer Unterschiede zwischen verschiedenen Liganden erlaubten, lassen sich heute auch absolute freie Bindungsenthalpien berechnen. Dabei werden die zunächst in der Bindungstasche enthaltenen Wassermoleküle gegen den Liganden ausgetauscht. Auf einem Parallelrechner mit 1920 Prozessoren berechneten Pande et al. die Bindung des Medikaments FK506 und acht seiner Derivate an das 107 Aminosäuren lange FKBP-Protein mit lediglich $1,7 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ Abweichung von den experimentellen Bindungskonstanten.¹¹⁾ Diese Arbeit zeigt, dass Bindungskonstanten für Protein-Liganden-Komplexe prinzipiell mit einer sehr hohen Genauigkeit berechnet werden können. Allerdings beträgt der Rechenaufwand dieser Studie auf einem einzelnen Prozessor 50 000 CPU-Tage. In praktischen Anwendungen sind daher Näherungen für das Solvensmodell oder die Menge an Konformationssampling erforderlich.

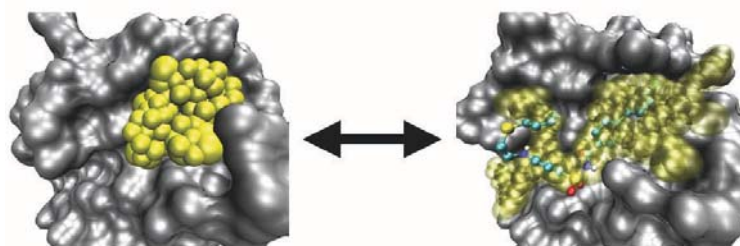


Abb. 1. Die linke Seite zeigt die Kristallstruktur des Proteins Bcl-Xl im ungebundenen Zustand. Die gelben Kugeln bilden eine kleine Tasche am Bindungsinterface für das Protein bak, die mit dem Programm PASS identifiziert wurde. Rechts gezeigt ist ein Schnappschuss aus einer MD-Simulation, in dem sich die Tasche deutlich größer öffnet, so dass ein nativer Inhibitor hineingedockt werden kann. (zur Verfügung gestellt von Susanne Eyrisch)

Proteine in Membranen

◆ Eine wichtige Rolle spielen MD-Simulationen beim Studium von Vorgängen an Lipidmembranen, die oft nicht direkt experimentell zugänglich sind. So zeigten MD-Simulationen, dass sich das Signaltransduktionsschalterprotein H-ras spontan in Phospholipiddoppelschichten einlagern kann (Abbildung 2, S. 330).¹²⁾ Durch Simulationen mit Zwangspotenzial konnte sogar das Profil der freien Enthalpie entlang dieses Prozesses berechnet werden, der ohne nennenswerte Energiebarriere verläuft.¹³⁾ Sobald H-ras in die hydrophobe Schicht eindringt, nimmt die freie Enthalpie rasch ab.

Zunehmende Bedeutung erlangen Coarse-grained-Modelle,¹⁴⁾ die gegenüber atomistischen Simulationen die erforderlichen Rechenzeit dramatisch reduzieren. Mit einem derartigen Modell ließ sich zum Beispiel die Bewegung von 16 Rhodopsin-Proteinen in einer Lipidmembran während $8 \mu\text{s}$ simulieren und der Einfluss des hydrophoben Mismatches zwischen Lipidschicht und Proteinoberfläche auf die Assemblierung der Rhodopsine demonstrieren.¹⁵⁾

Proteinfaltung

◆ Eines der derzeit spektakulärsten Arbeitsgebiete für Theoretiker ist die Proteinfaltung. Zahlreiche Arbeitsgruppen konkurrieren auf diesem Gebiet und strengen sich an, neue Methoden zu entwickeln und bestehende zu verbessern. In der Vergangenheit brachte die enge Zusam-

menarbeit von experimentellen mit Simulationsgruppen oft besonders gute Ergebnisse. Zum Beispiel kooperiert an der Universität von Cambridge Michele Vendruscolo eng mit der NMR-Gruppe von Chris Dobson. Durch Einführung von Zwangsbedingungen ähnlich zu den aus experimentellen Daten extrahierten Φ -Werten erzeugten sie strukturelle Ensembles für den Übergangszustand und für den entfaltenen Zustand von Proteinen.¹⁶⁾ Als Beispiel für die Charakterisierung der Kinetik der Proteinfaltung auf Energiehyperflächen ermittelte die Folding@home Gruppe um Vijay Pande aus Tausenden von einzelnen Trajektorien Faltungszeiten im Bereich von Mikrosekunden für einige kleine Proteine, die gut mit den experimentellen Werten übereinstimmen.¹⁷⁾

Einfluss aktueller Rechnerarchitekturen

◆ MD-Simulationen an biomolekularen Systemen gehören zu den aufwendigsten numerischen Simulationen überhaupt. Sie werden oft an Höchstleistungsrechenzentren durchgeführt. Für zwei Systeme mit 23 500 und 92 200 Atomen berichtete das Unternehmen DE Shaw Research vor kurzem über Simulationen von 173 Nanosekunden pro Tag auf 512 Prozessoren bzw. von 120 Nanosekunden pro Tag auf 2048 Prozessoren. Dabei wurde ein speziell optimiertes Programm verwendet, das eine atomistische Simulation des NaH-Antiporers in einer expliziten Membrenumgebung über

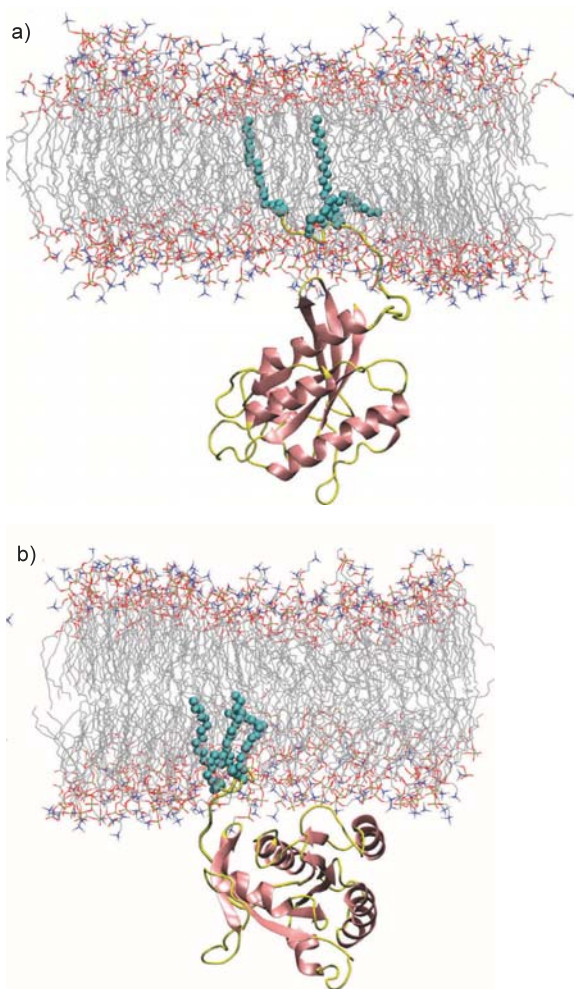


Abb. 2. Durch MD-Simulationen modellierte Interaktion des membran-verankerten Proteins H-ras mit einer Phospholipid-Doppelschicht-Membran. Vorgeschlagene Konformation des H-ras:GDP-Komplexes a) und die des H-ras:GFP-Komplexes b).

(zur Verfügung gestellt von Alemayehu Gorfe)

einen Zeitraum 3 Mikrosekunden Länge erlaubte.¹⁸⁾ Dies ist derzeit die Grenze des technisch Machbaren. Wohl nur wenige Arbeitsgruppen auf der Welt haben Zugang zu derartigen Rechnerressourcen. Für Ende dieses Jahres hat dasselbe Unternehmen jedoch einen neuartigen Rechner angekündigt, dessen Architektur speziell auf die Anforderungen von MD-Simulation zugeschnitten ist und Simulationen auf der Zeitskala von Millisekunden möglich machen soll – ein Quantensprung verglichen mit dem heutigen Stand.¹⁹⁾

Ein konkurrierendes Konzept verfolgt die Arbeitsgruppe um Vijay Pande in Stanford/USA bei ihrem Folding@home-Projekt. Weltweit haben Hunderttausende Freiwillige diese Software kostenlos als Bild-

schirmschoner heruntergeladen und führen für diese Arbeitsgruppe Simulationen durch, solange sie ihren Rechner nicht selbst einsetzen. Mit diesem Konzept des Rechnens auf verteilten Systemen lassen sich allerdings keine Simulationen durchführen, die auf mehreren Prozessoren parallel rechnen. Die Kunst bei dem Entwurf dieses Simulationsprojekts war es vielmehr, das Projekt in kleine Einheiten zu zerlegen. Sobald auf einem der Rechner etwas Interessantes passiert wie etwa eine entscheidene Konformationsänderung durch Überwinden einer kritischen Energiebarriere, wird diese Nachricht an die Rechner der anderen Teilnehmer geschickt. Deren Simulationen werden dann automatisch von dieser neuen Konformation aus fortgesetzt. Durch diese Parallelität der einzelnen Simulationen lässt sich nachweislich ein erheblich größerer Konformationsraum abtasten als in einzelnen Simulationen. Mittlerweile sind diese Simulationen auch auf der Spielkonsole Playstation 3 möglich, die einen sehr mächtigen Prozessor enthält. Obwohl man über so etwas lächeln mag, erreicht man durch diese Informationskanäle des Internet-2.0-Zeitalters vermutlich mehr Menschen als durch die herkömmlichen Medien. Auch dies ist eine Aufgabe für die Wissenschaft.

Ausblick

◆ MD-Simulationen an biomolekularen Systemen produzieren heute Ergebnisse mit einer Genauigkeit ähnlich dem Experiment. Für die nahe Zukunft sind Rechnerarchitekturen angekündigt, die etwa Hundert Mal längere Simulationszeiten als bisher erwarten lassen. Damit erschließen sich MD-Simulationen ungeahnte Anwendungsfelder und bleiben ein unverzichtbares Werkzeug der Molekularbiologie und Biochemie.

Volkhard Helms
Universität des Saarlandes
volkhard.helms@
bioinformatik.uni-saarland.de

- 1) M. Karplus, J. A. McCammon, *Nat. Struct. Biol.* 2002, 9, 646–652.
- 2) W. F. van Gunsteren, D. Bakowies, R. Baron, et al., *Angew. Chemie* 2006, 118, 4168–4198.
- 3) B. L. de Groot, H. Grubmüller, *Science* 2001, 294, 2353–2357.
- 4) K. Lindorff-Larsen, R. B. Best, M. A. DePristo, C. M. Dobson, M. Vendruscolo, *Nature* 2005, 433, 128–132.
- 5) H. Grubmüller, *Phys. Rev.* 1995, E 52, 2893.
- 6) D. Hamelberg, J. A. McCammon, *J. Chem. Phys.* 2004, 120, 11919–11929.
- 7) P. R. L. Markwick, G. Bouvignies, M. Blackledge, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 4724–4730.
- 8) L. T. Vassilev, B. T. Vu, B. Graves, et al., *Science* 2004, 303, 844–848.
- 9) S. Eyrisch, V. Helms, *J. Med. Chem.* 2007, 50, 3457–3464.
- 10) V. Helms, R. C. Wade, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 2710–2713.
- 11) H. Fujitani, Y. Tanida, M. Ito, et al., *J. Chem. Phys.*, 2005, 123, 084108.
- 12) A. A. Gorfe, M. Hanzal-Bayer, D. Abankwa, J. F. Hancock, J. A. McCammon, *J. Med. Chem.* 2007, 50, 674.
- 13) A. A. Gorfe, A. Babakhani, J. A. McCammon, *Angew. Chem.* 2007, 119, 8382–8385.
- 14) S. J. Marrink, A. H. de Vries, A. E. Mark, *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 750–760.
- 15) X. Periole, T. Huber, S. J. Marrink, T. P. Sakmar, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 10126–10132.
- 16) X. Salvatella, C. M. Dobson, A. R. Fersht, M. Vendruscolo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 12389–12394.
- 17) D. L. Ensign, P. M. Kasson, V. S. Pande, *J. Mol. Biol.* 2007, 374, 806–816.
- 18) I. T. Arkin, H. Xu, M. Ø. Jensen, et al., *Science* 2007, 317, 799–80.
- 19) B. Borrell, *Nature* 2008, 451, 240–243.



Volkhard Helms, Jahrgang 1966, studierte in Freiburg und München Physik und promovierte 1996 am EMBL in Heidelberg. Nach einem Aufenthalt an der UC San Diego übernahm er 1998 die Leitung einer selbständigen Nachwuchsgruppe am MPI für Biophysik in Frankfurt/Main. 2003 folgte er einem Ruf auf einen Lehrstuhl für Bioinformatik an der Univ. des Saarlandes. Seine Arbeitsgebiete sind biomolekulare Simulationen und Algorithmen zur Untersuchung von Protein-Protein-Interaktionen, die Struktur von Transmembranproteinen und Protonentransport in Biomolekülen.