

# Biochemie im Computer

Die computergestützte Chemie blickt bereits auf eine relativ lange erfolgreiche Geschichte zurück. Inzwischen hat sich auch die computergestützte Biochemie etabliert und trägt zum Verständnis biochemischer Prozesse bei. Wir stellen hier die wichtigsten Methoden und eine aktuelle Anwendung vor.



Astrid R. Klingen



G. Matthias Ullmann

## Naturwissenschaftliche Computermodelle: Wie und Warum?

Jedes Modell strebt nach einer vereinfachten, aber aussagekräftigen Beschreibung eines bestimmten realen Systems. Dabei idealisiert und subjektiviert das Modell: Es werden nicht alle Eigenschaften des realen Systems beschrieben, und die Auswahl der beschriebenen Eigenschaften wird durch eine spezifische Fragestellung bestimmt. Ein gutes Modell erfüllt den Anspruch, so einfach wie möglich, aber nicht einfacher, und so kompliziert wie nötig, aber nicht komplizierter zu sein.

Um aus einem Modell Erkenntnisse über die Realität zu gewinnen ist es nützlich und oft unumgänglich, ein Computermodell zu entwerfen (Abb. 1). Die computergestützte Untersuchung des modellierten Systems ist oft einfacher, schneller und billiger als die experimentelle Untersuchung des realen Systems. Zudem können im Computermodell experimentell nicht zugängliche Zustände des Systems generiert und untersucht werden. Der Grad der Übereinstimmung von modellierten mit experimentellen Ergebnissen ist ein Maß dafür, wie gut das reale System verstanden wird.

## Methoden der theoretischen Biochemie

Die theoretische Biochemie stützt sich zum großen Teil auf Methoden aus den Bereichen der Quantenmechanik, Molekularmechanik und Kontinuumelektrostatik (Abb. 2). Voraussetzung für die Anwendung dieser Methoden ist die

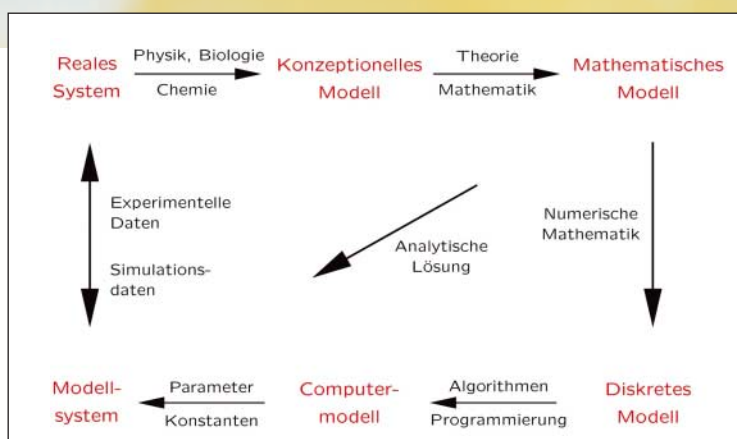


Abb. 1: Formulierung eines Computermodells. Das konzeptionelle Modell wird auf Grund einer konkreten Fragestellung und naturwissenschaftlichen Beschreibung des realen Systems entworfen. Das daraus gewonnene mathematische Modell hat oft nur für Spezialfälle eine analytische Lösung. In allen anderen Fällen muss das Problem numerisch gelöst werden, dazu dienen Computerprogramme. Experimentell gewonnene Erkenntnisse über das reale System werden verwendet um das Computermodell zu optimieren.

Kenntnis der dreidimensionalen Struktur des untersuchten Biomoleküls.

**Quantenmechanische (QM) Modelle** beschreiben ein System von Atomen mit allen elektronischen Freiheitsgraden: Die Bewegung der Elektronen im Feld der Atomkerne wird modelliert. Zur Zeit können mit QM-Methoden maximal 1.000 Atome beschrieben werden, also z.B. ein aktives Zentrum eines Enzyms [1]. Mit QM-Methoden können Reaktionsenergien im Vakuum, optimierte Kerngeometrien, Elektronendichteverteilungen und spektroskopische Charakteristika berechnet werden.

In der **Molekularmechanik (MM) und -dynamik (MD)** werden Wechselwirkungen zwischen kovalent gebundenen Atomen durch Gleichgewichtslängen und -winkel charakterisiert. Sogenannte Kraftkonstanten beschreiben, wie stark die Gleichgewichtswerte gegenüber Auslenkungen energetisch bevorzugt werden. Alle MM- und MD-Modelle beruhen auf einem empirisch parametrisierten

Kraftfeld, das aus einem Satz von Atomtypen, Gleichgewichtsbindungen und -winkeln sowie dazugehörigen Kraftkonstanten besteht. Auch elektrostatische und van-der-Waals-Wechselwirkungen werden durch die verschiedenen Kraftfelder beschrieben. Gegenwärtig existieren mehrere etablierte, verschieden parametrisierte Kraftfelder (z.B. CHARMM und AMBER [2]). Durch ein Kraftfeld wird eine hochdimensionale Potentialfunktion bestimmt, aus der die potentielle

Energie einer bestimmten Konformation eines Biomoleküls in Abhängigkeit von den räumlichen Koordinaten aller Atome berechnet werden kann.

MM-Methoden untersuchen die für ein bestimmtes Molekül spezifische Potentialfunktion. Energetisch günstige Konformationen sowie Übergangszustände zwischen stabilen Strukturen können identifiziert werden. In MD-Simulationen werden mittels der Potentialfunktion die Kräfte berechnet, die in einer bestimmten Ausgangskonformation auf jedes einzelne Atom wirken. Die Newtonsche Bewegungsgleichung wird iterativ gelöst und so ein Satz von Konformationen (eine sogenannte Trajektorie) erhalten, der die Bewegung aller Atome über einen bestimmten Zeitraum beschreibt.

Chemische Reaktionen, also der Bruch oder die Ausbildung einer kovalenten Bindung, können mit reinen MM/MD-Methoden nicht modelliert werden. Die gegenwärtige Obergrenze für MM-Modellierungen liegt bei etwa  $10^6$

Atomen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass ein Biomolekül für die Untersuchung seiner Eigenschaften in wässriger Lösung auch im Modell von ausreichend vielen Wassermolekülen umgeben sein muss. Ein MM-Ansatz für eine kleine globuläre Nuklease aus *Staphylococcus* (136 Aminosäuren) beinhaltet z.B. 3.636 Wassermoleküle. MD-Simulationen erreichen gegenwärtig eine Länge von  $10^{-8}$  bis  $10^{-7}$ sec, also etwa den Zeitbereich lokaler Konformationsänderungen eines Proteins.

In **kontinuumelektrostatischen Modellen** wird ein System aus einem Biomolekül und umgebendem Lösungsmittel mit semiatomarem Detail beschrieben [3]. Das Biomolekül wird durch atomzentrierte Partialladungen in einem relativ apolaren Medium (niedrige Dielektrizitätskonstante) modelliert. Das wässrige Lösungsmittel wird nicht explizit atomar beschrieben, sondern lediglich als ein polares Kontinuum mit hoher Dielektrizitätskonstante. Ein solches System mit einer bestimmten räumlichen Verteilung von Ladungen und Dielektrizitätskonstanten wird durch die Poisson-Boltzmann(PB)-Gleichung charakterisiert. Die Lösung dieser Gleichung liefert das elektrostatische Potential an einer bestimmten Stelle im Protein oder seiner Umgebung, und ermöglicht die Berechnung von elektrostatischen Energien. Da viele Bindungsprozesse (Substrat an Enzym, Ligand an Rezeptor etc.) von elektrostatischen Interaktionen dominiert sind, liefern die Ergebnisse aus PB-Rechnungen wichtige Beiträge zum Verständnis dieser Reaktionen. PB-Methoden sind auch auf sehr große Systeme anwendbar, da auf eine explizite Beschreibung des Lösungsmittels verzichtet wird.

Die **Kombination verschiedener Methoden** ermöglicht es, auch größere Systeme zu untersuchen, ohne auf eine detaillierte Beschreibung eines bestimmten Ausschnitts zu verzichten. Einige Anwendungen nutzen etwa QM-Methoden für das aktive Zentrum eines Enzyms, MM für die Proteinumgebung und PB-Methoden für das Lösungsmittel. Schwierig ist bei diesen Ansätzen die Behandlung der Übergänge zwischen den unterschiedlich modellierten Bereichen.

## Elektrostatik und Bioenergetik

Bioenergetische Reaktionen sind ein besonders lohnendes Objekt für die Untersuchung mit Methoden der theoretischen Biochemie. Die bioenergetischen Enzymkomplexe sind funktionell und strukturell gut charakterisiert, sodass eine fruchtbare Zusammenarbeit mit experi-

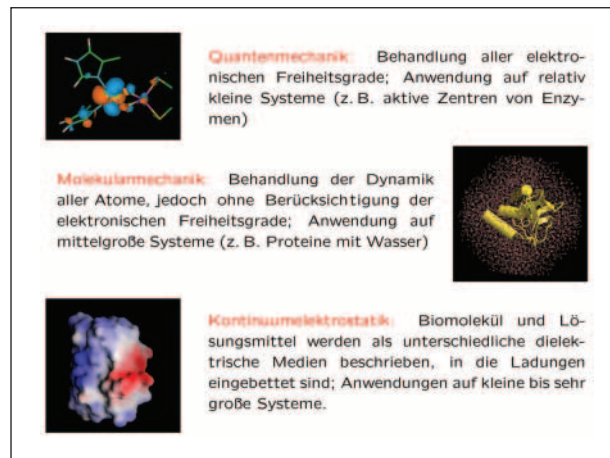


Abb. 2: Methoden der theoretischen Biochemie

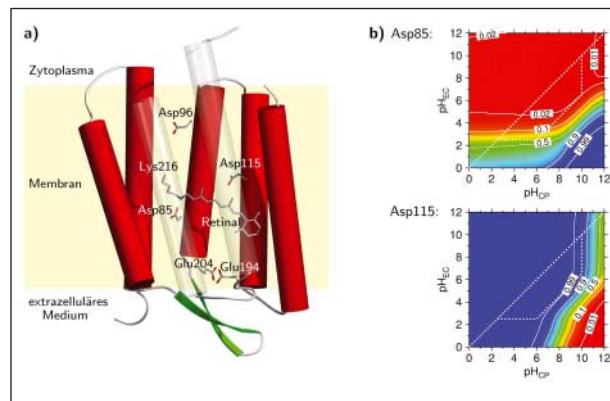


Abb. 3: Bakteriorhodopsin. a) Der Retinalkofaktor ist zwischen den Transmembranhelices des Proteins gebunden. Die geeigneten Aminosäuren sind an der Translokation des Protons über die Membran beteiligt. b) x-Achse: pH im Zytoplasma, y-Achse: pH im extrazellulären Medium. Die Protonierungswahrscheinlichkeiten sind farbkodiert. Asp85 muss deprotoniert sein, damit Protonentransfer vom Zytoplasma ins extrazelluläre Medium stattfinden kann. Bei hohem zytosolischem pH ist aber Asp115 deprotoniert, und Asp85 protoniert.

menteller Forschung in Modellentwurf und Dateninterpretation möglich ist.

Ein Beispiel für ein theoretisch wie experimentell rege untersuchtes System ist Bakteriorhodopsin (BR, Abb. 3a). Dieses Transmembranprotein verwendet Lichtenergie, um Protonen über eine Membran zu pumpen. Die Energie des entstehenden Protonengradienten wird von einem anderen Protein genutzt, um ATP zu synthetisieren. BR bindet Retinal, einen Kofaktor, der nach Lichtabsorption eine cis-trans-Konformationsänderung einer Doppelbindung erfährt. Diese lichtinduzierte Konformationsänderung setzt im Protein den sogenannten Photozyklus in Gang, in dessen Verlauf ein Proton über die Membran transportiert wird.

Eine aktuelle kontinuumelektrostatische Studie [4] untersucht den Einfluss des pH-Gradienten über die Membran auf den Protonierungszustand von Bakteriorhodopsin. Durch die gegenläufige Kopplung der Protonierungswahrscheinlichkeiten von Asp85 und Asp115 (Abb. 3b) wird vermutlich einer zytotoxi-

schen Alkalisierung des Zytoplasmas vorgebeugt. Dieses Ergebnis liefert somit eine Erklärung für die evolutionäre Konservierung von Asp115 sowie seinen experimentell bestimmten hohen  $pK_a$ -Wert.

## Ausblick

Langfristiges Ziel ist es, komplexe biochemische Reaktionen ausgehend von Untersuchungen mit hohem strukturellem Detail zu modellieren [5]. Die hier beschriebenen Methoden können im Prinzip mikroskopische Geschwindigkeitskonstanten der untersuchten Reaktionen liefern. Mit Hilfe von statistischer Thermodynamik können Geschwindigkeitskonstanten ermittelt werden, die das Verhalten eines molekularen Ensembles charakterisieren. Diese Geschwindigkeitskonstanten können als Parameter in der Modellierung von zellulären Netzwerken genutzt werden. Mit dem Schritt vom einzelnen Molekül zum Netzwerk wird auch der Schritt von der Biochemie zur Zellbiologie vollzogen.

## Referenzen

- [1] Siegbahn P. E.: Q. Rev. Biophys. 36, 91–145 (2003)
- [2] Karplus M. und McCammon J. A.: Nat. Struct. Biol. 9, 646–652 (2002)
- [3] Ullmann G. M. und Knapp, E.-W.: Eur. Biophys. J. 26, 533–551 (1999)
- [4] Calimet N. und Ullmann G. M.: J. Mol. Biol. 339, 571–589 (2004)
- [5] <http://www.bp.uni-bayreuth.de/bisb>

Dipl.-Biol. Astrid R. Klingen  
wissenschaftliche Mitarbeiterin

Prof. Dr. G. Matthias Ullmann  
Arbeitsgruppenleiter

Universität Bayreuth  
Abteilung Strukturbiologie/Bioinformatik  
Universitätsstraße 30, BGI  
95447 Bayreuth  
matthias.ullmann@uni-bayreuth.de