



ЄСИЛЕВСЬКИЙ

Семен Олександрович – доктор фізико-математичних наук, провідний науковий співробітник відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України
<https://orcid.org/0000-0002-6748-8931>

МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ: СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Стенограма наукової доповіді на засіданні Президії НАН України 4 квітня 2018 року

У доповіді проаналізовано стан розвитку у світі такого важливого напрямку сучасної біофізики, як молекулярне моделювання біологічних систем, зокрема біологічних макромолекул та клітинних мембран, розкрито можливості цього методу для використання як у фундаментальних дослідженнях, так і у прикладних галузях, насамперед у медицині, фармакології та біомедичних дослідженнях. Обговорено поточний стан і перспективи розвитку методів молекулярного моделювання біологічних систем в Україні.

Шановні члени Президії!

Шановні колеги!

За означенням, молекулярне моделювання біологічних систем – це опис біологічних об'єктів та явищ на молекулярному рівні за допомогою фізико-математичних моделей і чисельних алгоритмів, які, як правило, потребують використання потужних комп'ютерів. Ця мультидисциплінарна галузь науки знаходиться на перетині молекулярної і статистичної фізики, біофізики, молекулярної біології, біохімії та комп'ютерних наук і має фундаментальне значення для розвитку молекулярної біології і біофізики, а також пряме практичне використання у фармакології та біомедичних дослідженнях.

Об'єктами дослідження молекулярного моделювання біологічних систем є біологічні молекули (білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди), їх надмолекулярні агрегати (біологічні мембрани, білкові комплекси), а також природні та штучні наноструктури, що містять біологічні молекули.

Слід зазначити, що біологічні системи на молекулярному рівні мають свою специфіку. По-перше, вони поєднують ознаки твердих тіл, рідин, колоїдів, полімерів, рідких кристалів, не зводячись при цьому до жодного з цих типів речовин. По-друге, вони мають надзвичайно складну просторову будову і складну динамічну поведінку в безпрецедентно широкому для моле-

кул такого розміру діапазоні часів — від фемтосекунд до годин. По-третє, поведінка таких систем характеризується дуже високою чутливістю до мінімальних змін на атомарному рівні, зокрема, заміна лише кількох атомів може призводити до мутації та критично впливати на здоров'я організму в цілому. З огляду на це, для дослідження біологічних систем на молекулярному рівні необхідне поєднання кількох методів, які працюють на різних часових та просторових масштабах. Одним із таких методів є молекулярне комп'ютерне моделювання.

Напрямок молекулярного комп'ютерного моделювання біологічних систем розвивається вже понад 30 років і є на сьогодні досить розгалуженою галуззю науки. З усього різноманіття методів, які використовують у цій галузі, можна виділити три основні різновиди: структурне моделювання, динамічне моделювання і моделювання міжмолекулярних взаємодій.

Структурне моделювання — це визначення просторової структури молекул різних розмірів — як малих молекул, так і макромолекул. Завданнями структурного моделювання є, зокрема, розрахунок геометрії молекул, їх електронної структури та хімічних реакцій (переважно методами квантової хімії), побудова структурних моделей для потреб кристалографії, ЯМР та криоелектронної мікроскопії, передбачення структури і гомологічне моделювання білків та нуклеїнових кислот.

Динамічне моделювання — це моделювання рухів біологічних молекул у динаміці. У динамічному моделюванні використовують найчастіше методи квантової динаміки, атомістичної класичної молекулярної динаміки, грубозернистої класичної молекулярної динаміки, блочної та доменної динаміки білків, континуальної динаміки супрамолекулярних комплексів.

До моделювання міжмолекулярних взаємодій належать методи молекулярного докінгу (жорсткий, гнучкий, по конформаційному ансамблю тощо) та віртуального скринінгу.

Що стосується молекулярної динаміки, то часові та просторові масштаби, доступні цьому методу, майже ідеально відповідають за-

вданням з дослідження біологічних молекул. Зокрема, класична молекулярна динаміка, що ґрунтується на класичних рівняннях Ньютона, оперує системами, які мають розміри до сотень нанометрів, на часових масштабах порядку 1 мкс. Відповідно, такі системи можуть містити близько мільйона атомів. Грубозерниста молекулярна динаміка розглядає системи, в яких кілька атомів об'єднуються в одну частинку. Використання цього методу дозволяє працювати з системами розміром порядку мікрометрів на часових масштабах у сотні мікросекунд, які містять до 10^8 атомів. Для порівняння: квантова хімія (основана на рівняннях Шредінгера) на сьогодні може оперувати лише приблизно сотнями атомів на часовому масштабі порядку пікосекунд.

Отже, молекулярна динаміка оперує на так званому наноскопічному рівні, тобто працює з системами нанорозмірного масштабу на часових проміжках порядку наносекунд, що ідеально підходить для систем, які занадто великі для квантових розрахунків, але ще не є істинно макроскопічними. Саме такими системами і є біологічні макромолекули та їх агрегати.

Дуже коротко зупинюся на принципах молекулярної динаміки. У цьому методі система моделюється на рівні окремих атомів, які описуються явно, як точкові об'єкти. Кожен атом рухається згідно з рівняннями класичної механіки під дією сил від інших атомів у системі. Міжатомні взаємодії описуються емпіричними парними потенціалами, отриманими з експерименту чи з квантових розрахунків. Рівняння руху всіх атомів у системі розв'язують чисельно за допомогою спеціально розробленого складного програмного забезпечення. Розрахунки, як правило, виконують на потужних суперкомп'ютерах. Траєкторії руху всіх атомів записуються та аналізуються методами статистичної фізики з метою отримання бажаних мікро- та макрохарактеристик системи.

Дуже важливою ознакою методу молекулярної динаміки є його комплементарність до експериментальних методик. Цей метод дає змогу пояснити та уточнити дані експериментів, з'ясувати молекулярні механізми досліджува-

них явищ. Цьому сприяє, по-перше, атомарна роздільна здатність, якою оперує молекулярна динаміка і яка, як правило, недоступна для експериментів. По-друге, цей метод дає можливість спостерігати за будь-яким атомом чи хімічною групою, за всіма їх взаємодіями, а також за оточенням цих атомів чи груп, повністю контролюючи при цьому зовнішні умови і склад системи, що неможливо зробити в експерименті. По-третє, метод молекулярної динаміки дозволяє проводити довільні маніпуляції з системою, які неможливо чи дуже складно провести експериментальними методами. Наприклад, можна замінювати одні атоми або хімічні групи на інші, змінювати заряди, здійснювати спрямовані мутації в білках тощо. Відповідно, молекулярна динаміка дає змогу отримувати кількісні результати, які можна безпосередньо порівнювати з експериментальними даними — даними ЯМР, кристалографії, результатами вимірювань в'язкості, дифузії, фазових переходів, вільної енергії зв'язування, параметрів порядку та інших характеристик системи.

Кілька слів скажу про поточний стан розвитку цієї галузі у світі. На сьогодні молекулярне моделювання є обов'язковим комплементарним методом в експериментальних біомедичних і біофізичних дослідженнях, які стосуються вивчення молекулярних механізмів досліджуваних явищ. В останні роки склалася така практика, що редакції провідних наукових журналів дуже неохоче приймають до розгляду статті біомедичного і біофізичного профілю без наведених у них даних молекулярного моделювання.

Метод молекулярного моделювання широко використовують у прикладних дослідженнях, насамперед для оптимізації та модифікації вже існуючих лікарських препаратів, для спрямованого пошуку нових лікарських засобів (так званий комп'ютерний дизайн ліків), а також у різноманітних нанотехнологіях на основі біологічних молекул.

У світі кількість публікацій, пов'язаних з методом молекулярного моделювання, з року в рік стрімко зростає, що свідчить про активний розвиток цього напрямку. Дослідні підрозділи з

молекулярного моделювання сьогодні є в усіх провідних університетах та великих дослідних центрах світу, а також у багатьох медичних і фармацевтичних фірмах. На сьогодні річний обсяг комерційного ринку послуг з молекулярного моделювання в медицині та фармацевтиці оцінюється в сотні мільйонів доларів.

В Україні метод молекулярного моделювання також набув розвитку. У структурі Національної академії наук є досить багато окремих учених та наукових груп, які займаються цією тематикою в широкому сенсі, причому переважна більшість з них працює в галузі квантової хімії. Втім, оскільки методи квантової хімії можуть застосовуватися не лише для біологічних молекул, надалі я говоритиму тільки про тих дослідників, хто займається молекулярною динамікою біологічних систем. У цьому більш вузькому напрямі працює не так багато вчених.

Отже, можна назвати такі дослідницькі групи, які займаються молекулярною динамікою біологічних систем в Україні:

- відділ фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України (Київ);
- відділ білкової інженерії і біоінформатики та відділ біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (Київ);
- відділ комп'ютерного моделювання багаточастинкових систем Інституту фізики конденсованих систем НАН України (Львів);
- відділ біологічної фізики Інституту радіофізики і електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України (Харків);
- лабораторія біоінформатики та структурної біології Інституту харчової біотехнології і геноміки НАН України (Київ);
- дослідницька група на фізичному факультеті Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Однак порівняно зі світовими тенденціями напрям молекулярного моделювання біологічних систем в Україні суттєво недорозвинений. Цьому є різні причини, найголовніші з яких — недостатня кількість спеціалістів потрібного професійного рівня та незадовільна підготовка

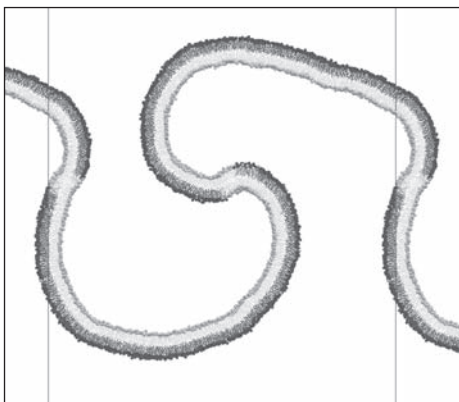


Рис. 1. Миттєвий «знімок» форми ліпідної мембрани з асиметричним складом моношарів, отриманий у розрахунках методом грубозернистої молекулярної динаміки [1]

студентів у вищих навчальних закладах. Проблема полягає в тому, що фахівець у галузі молекулярного моделювання має бути одночасно добре обізнаний не лише у фізиці, хімії та біології, а й у комп'ютерних науках. Проте молодь, яка знається на інформаційних технологіях і потенційно могла б поповнити ряди фахівців з молекулярного моделювання, віддає перевагу роботі в ІТ-галузі з її незрівнянно вищим рівнем оплати праці. Крім того, в Україні доступ до сучасних розрахункових потужностей, необхідних для ефективної роботи в галузі молекулярної динаміки біологічних систем, залишається досить обмеженим. Зважаючи на це, кількість робіт світового рівня з цієї тематики, виконаних українськими вченими, є дуже невеликою.

До того ж у світі попит на моделювання біологічних систем формується запитом не тільки і не стільки від фундаментальної науки, скільки від прикладних медичних і фармацевтичних досліджень, які виконуються переважно на комерційній основі. В Україні, на жаль, майже всі дослідження з молекулярного моделювання є фундаментальними, а вітчизняна медична галузь і фармацевтична промисловість нехтують цими сучасними методами.

Певним гальмівним фактором для розвитку молекулярного моделювання в Україні є те, що

наукові групи, які працюють у цьому напрямі, розпорошені і погано скоординовані.

Далі я наведу окремі приклади застосування методів молекулярної динаміки біологічних систем, починаючи від фундаментальних досліджень і завершуючи більш прикладними.

Прикладом фундаментальних досліджень з використанням цих методів можуть бути дослідження біологічних мембран із суттєвою кривизною поверхні. Як відомо, реальні біологічні мембрани не є плоскими. Їхня поверхня суттєво викривлена, і ця кривизна постійно змінюється у часі. Експериментальні дані є усередненими по цих змінах кривизни і не дають змогу вивчити її детально. Натомість молекулярна динаміка дозволяє дослідити зміни кривизни мембрани у часі та розібратися в експериментальних даних.

За допомогою методу грубозернистої молекулярної динаміки ми здійснили пряме спостереження змін кривизни мембрани у часі залежно від її хімічного складу. На рис. 1 наведено приклад миттєвої форми мембрани, отриманий цим методом [1]. В експерименті одержати такий миттєвий «знімок» мембрани неможливо, а тому молекулярне моделювання дозволяє дослідникам набагато краще інтерпретувати експериментальні дані, які є усередненими за такими флуктуаціями кривизни мембрани.

Іншим прикладом уже більш прикладного дослідження з використанням молекулярної динаміки є вивчення впливу асиметрії та кривизни біологічних мембран на їх фізичні властивості на мікроскопічному рівні. Нам вдалося вперше побудувати атомістичні моделі мембран, які є максимально наближеними до реальних клітинних мембран, з урахуванням, зокрема, їх асиметрії та кривизни [2]. На рис. 2 наведено приклад реалістичної моделі клітинної мембрани у плоскому стані та викривленої у двох протилежних напрямках. Було визначено вплив асиметрії складу та радіуса кривизни мембрани на її фізичні властивості, такі як структурні параметри, площа, яка припадає на один ліпід, параметр порядку, концентрація та положення молекул холестеролу тощо. В екс-

перименті визначити зазначені властивості залежно від кривизни не вдається. Отримані дані є важливими для дизайну лікарських препаратів, особливо коли йдеться про ліки, які мають проникати крізь мембрани реальних клітин, що характеризуються високою кривизною та асиметрією ліпідного складу. Отже, це фундаментальне дослідження має вже пряме практичне використання.

Наступний приклад є ще більш практичним. Це вивчення фізичних механізмів взаємодії гемцитабінсквалену з ліпопротеїновими частинками плазми крові. Гемцитабінсквален є комплексом відомого протиракового препарату гемцитабіну зі скваленом — природною жиророзчинною речовиною, яка є попередником у синтезі холестеролу та стероїдних гормонів у клітинах людини. Наночастинки подібних скваленових похідних є одним із найперспективніших матеріалів для адресної доставки токсичних лікарських речовин безпосередньо до пухлини з метою мінімізації їх негативного впливу на організм. Такі частинки є нетоксичними, біосумісними і можуть бути введені безпосередньо у кров, яка успішно транспортує їх до відповідних тканин-мішеней. Проте досі невідомо, як скваленові наночастинки взаємодіють із різними компонентами плазми крові. З огляду на жиророзчинність скваленів найбільш важливим є з'ясування механізму їх взаємодії з ліпопротеїнами низької густини — природними наночастинками, які в організмі виділяються в кровоток печінкою і беруть участь у метаболізмі жирів та холестеролу.

За допомогою методу молекулярної динаміки ми показали, що молекули гемцитабінсквалену дуже активно взаємодіють з ліпопротеїнами плазми крові, накопичуються в них і в такий спосіб поширюються організмом [3]. При цьому скваленовий «хвіст» завдяки своїй жиророзчинності проникає всередину ліпопротеїнової «краплі», втягуючи за собою приєднану до нього молекулу гемцитабіну. Без скваленового комплексу водорозчинний гемцитабін швидко деградує в плазмі крові, не досягаючи клітин-мішеней. На рис. 3 показано профілі вільної енергії переносу молекули

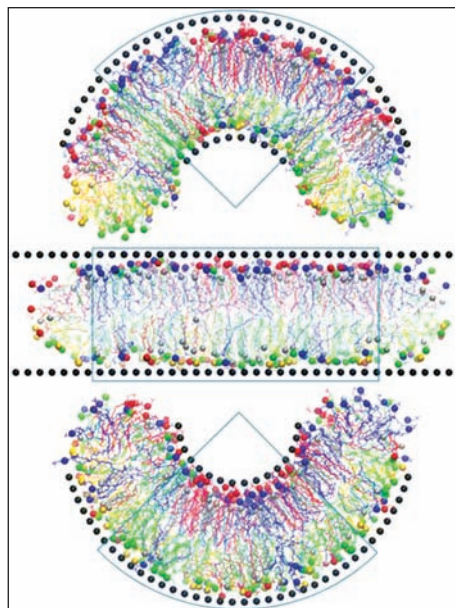


Рис. 2. Реалістична модель плазматичної клітинної мембрани з асиметричним складом моношарів та різною кривизною поверхні

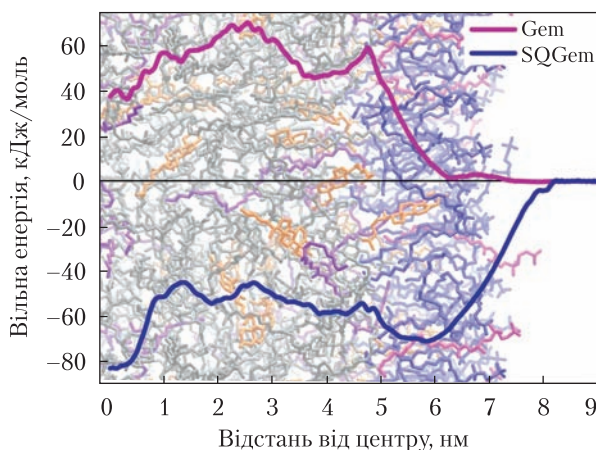


Рис. 3. Профілі вільної енергії переносу молекули гемцитабіну (червона крива) та гемцитабінсквалену (синя крива) до ліпідного ядра ліпопротеїнової частинки

гемцитабіну і комплексу гемцитабінсквалену до ліпідного ядра ліпопротеїнової частинки. Від'ємні значення вільної енергії свідчать про те, що молекули гемцитабінсквалену, на відміну від гемцитабіну, активно проникають у частинку ліпопротеїну.

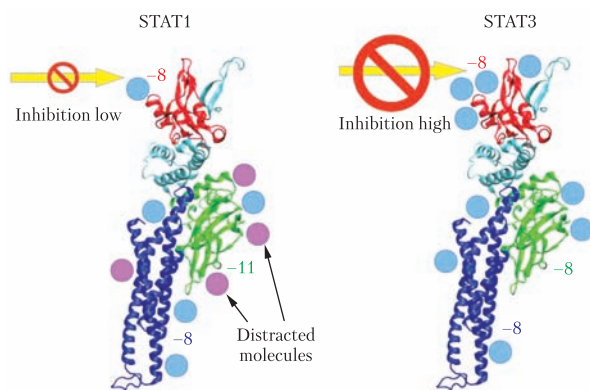


Рис. 4. Схема статистичного розподілу молекул лікарського препарату між різними доменами споріднених білків, що приводить до збільшення його ефективної концентрації навколо сайту зв'язування молекулярної мішені, який потрібно заблокувати

Отже, нам вдалося на молекулярному рівні підтвердити експериментальні спостереження, отримані нашими французькими колегами, щодо принципово нового механізму транспортування цього типу ліків у крові.

Продовженням згаданої вище роботи стали дослідження вже трьох протиракових препаратів та їх скваленових похідних і вивчення не лише їх накопичення у ліпопротеїнах, а й механізмів взаємодії з білками плазми крові. Було показано, що похідні всіх трьох препаратів ефективно переносяться кров'ю у складі ліпопротеїнових частинок та у комплексі з сироватковим альбуміном [4]. Таким чином було встановлено універсальний характер нового механізму транспорту таких похідних протиракових препаратів, і ці результати мають пряме біомедичне застосування, оскільки зараз ці нові ліки перебувають на стадії доклінічних досліджень.

Нарешті останній приклад, який я хотів би навести, пов'язаний з вивченням нового механізму селективності зв'язування протиракових препаратів з їх білками-мішенями. Основне завдання цієї роботи полягало в розрізненні двох

білків дуже подібної структури, один з яких є активним у ракових клітинах, а другий — у нормальних. Відповідно, для того щоб припинити розвиток ракових клітин, лікарський препарат повинен заблокувати той білок, який працює в ракових клітинах, не зачіпаючи при цьому функціонування його нормального різновиду. Методами молекулярної динаміки та докінгу по ансамблю нам вдалося виявити принципово новий механізм селективності протиракових лікарських препаратів до білків-мішеней з подібними структурами [5]. Цей механізм ґрунтується на тому, що молекули препарату статистично по-різному розподіляються між різними доменами таких споріднених білків, що приводить до збільшення їх ефективної концентрації довкола бажаної молекулярної мішені (рис. 4). Ці результати відкривають широкі можливості для пошуку ліків, що діють на молекулярному рівні на білки-мішені, які раніше вважалися безперспективними для такого роду досліджень.

Підсумовуючи все сказане, можна зробити такі висновки. Молекулярне моделювання біологічних систем є дуже важливою міждисциплінарною галуззю науки, яка бурхливо розвивається в усьому світі і має безпосереднє практичне застосування. Цей сучасний науковий напрям має прямі перспективи комерціалізації, які, однак, повною мірою залежать від загального стану наукомісткої промисловості, насамперед медичної сфери та фармацевтичної галузі в тій чи іншій країні.

В Україні на сьогодні є окремі наукові групи, які успішно працюють за цією тематикою на світовому рівні, але в цілому цей науковий напрям недостатньо розвинений.

Отже, на нашу думку, варто активізувати роботи з цього напрямку в Україні, а також поліпшити координацію досліджень між різними науковими групами.

Дякую за увагу!

За матеріалами засідання підготувала О.О. Мележик

REFERENCES

1. Yesylevskyy S.O., Kraszewski S., Ramseyer C. Determination of the shape and curvature of nonplanar lipid bilayers that are bent in a single plane in molecular dynamics simulations. *Journal of Molecular Modeling*. 2014. **20**(4): 2176. <https://doi.org/10.1007/s00894-014-2176-x>
2. Yesylevskyy S.O., Rivel T., Ramseyer C. The influence of curvature on the properties of the plasma membrane. Insights from atomistic molecular dynamics simulations. *Scientific Reports*. 2017. **7**(1): 16078. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16450-x>
3. Sobot D., Mura S., Yesylevskyy S.O., Dalbin L., Cayre F., Bort G., Mougin J., Desmaële D., Lepetre-Mouelhi S., Pieters G., Andreiuk B., Klymchenko A.S., Paul J.L., Ramseyer C., Couvreur P. Conjugation of squalene to gemcitabine as unique approach exploiting endogenous lipoproteins for drug delivery. *Nature Communications*. 2017. (8): 15678. <https://doi.org/10.1038/ncomms15678>
4. Yesylevskyy S.O., Ramseyer C., Savenko M., Mura S., Couvreur P. Low-Density Lipoproteins and Human Serum Albumin as Carriers of Squalenoylated Drugs: Insights from Molecular Simulations. *Mol. Pharmaceutics*. 2018. **15**(2): 585. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00952>
5. Yesylevskyy S.O., Ramseyer C., Pudlo M., Pallandre J.R., Borg C. Selective Inhibition of STAT3 with Respect to STAT1: Insights from Molecular Dynamics and Ensemble Docking Simulations. *J. Chem. Inf. Model*. 2016. **56**(8): 1588. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00198>

S.O. Yesylevskyy

Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)
<https://orcid.org/0000-0002-6748-8931>

MOLECULAR MODELING OF BIOLOGICAL SYSTEMS:
CURRENT PROGRESS AND PROSPECTS

Transcript of scientific report at the meeting of the Presidium of NAS of Ukraine,
April 4, 2018

This report is devoted to current progress and prospects of such important area of modern biophysics as molecular modeling of biological systems, particularly biological macromolecules and cell membranes. The capabilities of this method in fundamental and applied science are discussed with an emphasis on biomedical and pharmaceutical research. The state and prospective development of research in the area of molecular modeling of biological systems in Ukraine is discussed.