К МОДУЛЮ 7. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ. КОМПЬЮТЕРНАЯ ГРАФИКА МОЛЕКУЛ

Издавна информацию о составе и строении химического вещества принято было записывать с помощью химических формул, по которым можно судить об элементном составе вещества и его молекулярной массе. Однако такая простейшая форма записи часто не может дать понятия о строении молекулы (как, например, «эмпирическая» формула гемоглобина — $C_{3032}H_{4816}N_{780}O_{872}N_{780}S_8Fe_4$ — практически ничего не говорит о его устройстве). Для сложных веществ, обладающих высокой конформационной подвижностью, даже структурная формула (графическое изображение связанных между собой химических групп на плоскости) не позволяет описать пространственное строение молекулы.

В 40-х годах прошлого века началось бурное развитие структурной химии и рентгеновской кристаллографии, что привело к определению первых пространственных структур органических молекул. Возможности структурных формул оказались исчерпаны, так как с их помощью (хоть они и называются структурными) крайне затруднительно передать трехмерное строение сложной молекулы. Вскоре последовавшие открытия структур белковых молекул и ДНК создали дополнительную потребность в способах наглядного изображения пространственной структуры биомакромолекул.

В течение третьей четверти XX века структуру молекул передавали практически исключительно с помощью так называемых «физических моделей» (см. § 2), то есть буквально «собирали» молекулу в увеличенном масштабе с использованием подручных материалов: пластмассовых шариков, медных стерженьков и тому подобного. С развитием вычислительной техники визуализация молекул стала проводиться почти полностью на дисплеях компьютеров, однако построение «физических» моделей не кануло в лету: они по-прежнему используются в качестве учебных пособий и служат источником вдохновения для людей, занимающихся молекулярной скульптурой (см. § 2.6).

«Физические» модели макромолекул

Самые знаменитые модели молекул: белковая α-спираль и двойная спираль ДНК

Середина XX века была ознаменована двумя крупнейшими открытиями, положившими начало структурной биологии и невероятно продвинувшими вперед все биологические науки. Эти открытия связаны с установлением принципов пространственной организации двух классов биологически важных макромолекул: белков и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Одним из основателей структурной биологии по праву считается Лайнус Полинг (*Linus Carl Pauling*) [1], след которого в науке и других сферах деятельности чрезвычайно глубок: это и развитие рентгеновской кристаллографии, и создание теории химического резонанса, и объяснение молекулярных основ серповидной анемии, и активная антимилитаристическая деятельность (отмеченная в 1962 году нобелевской премией Мира). Одно из наиболее существенных его достижений (также отмеченное нобелевской премией (рис. 1)) основывается на изучении структурных особенностей фибриллярных белков. Совместно с Робертом Кори (*Robert Corey*) Полинг открыл один из самых распространённых мотивов укладки полипептидной цепи — α-спираль. (Их открытие, обнародованное в 1951-м году после 14 лет упорного труда [2], не связано с детальным

описанием структуры какого-либо белка: это было сделано семью годами позже (см. § 2.3).)

Лайнус Полинг был очень экспансивным, энергичным и нетерпеливым человеком: говорят, что своё открытие он сделал, руководствуясь более «химической интуицией» и молекулярными моделями полипептидной цепи, чем данными рентгеновской кристаллографии и расчётами длин химических связей, выполненными его более усидчивым коллегой Р. Кори. Для определения возможных конфигураций белковой цепи Полинг строил разнообразные модели, с помощью которых можно было установить, подчиняется ли эта конфигурация стереохимическим закономерностям, в частности, установленному им факту, что пептидная связь (состоящая из четырёх атомов) должна быть плоской.

Модели атомов и аминокислотных остатков должны «автоматически» (посредством своей конструкции) учитывать такие характеристики, как длины и углы валентных связей, возможные значения двугранных углов, способность некоторых пар атомов образовывать водородные связи и пр. Модели, используемые Полингом и Кори (рис. 1), позволили им сделать вывод, что главная цепь белковой молекулы может укладываться в спиральную структуру с нецелым числом аминокислотных остатков (3.6 остатка), приходящихся на один виток спирали. При этом спираль стабилизируется водородными связями между атомами главной цепи остатков, смещённых друг относительно друга на четыре позиции. Полученная в 1958 году пространственная структура миоглобина (см. § 2.3) подтвердила сделанное Полингом открытие и показала, что α-спираль — один из самых широко распространённых элементов конструкции белковой молекулы.

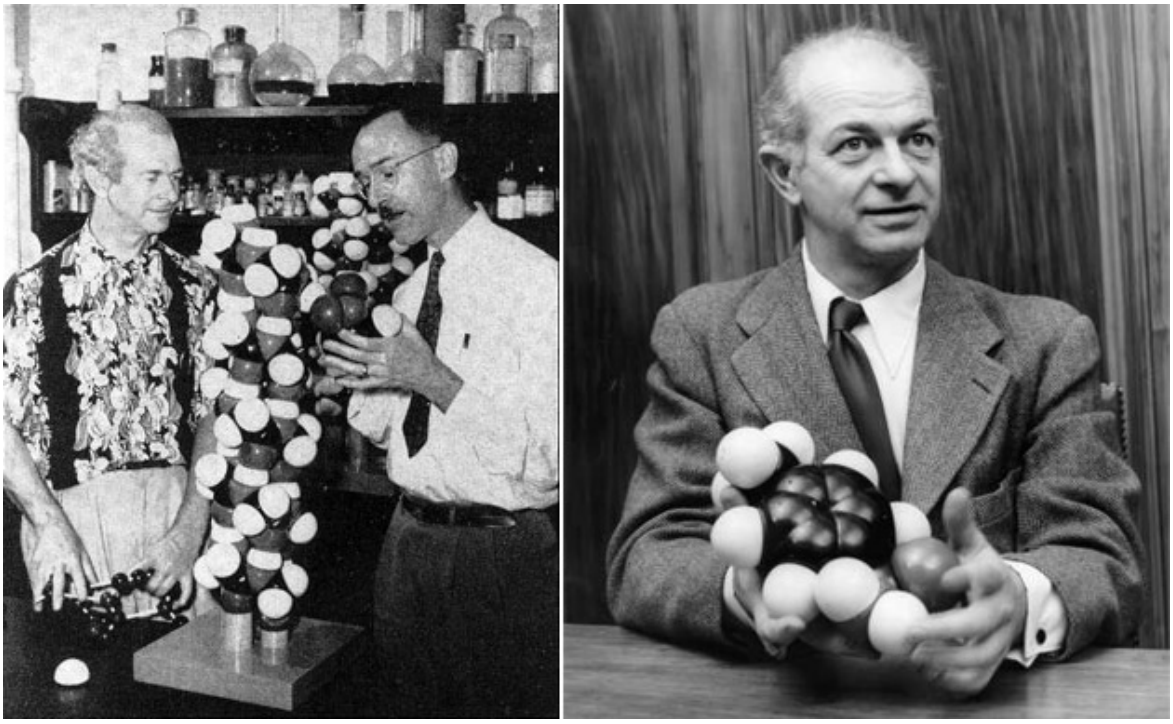

Рисунок 1. *Слева:* Лайнус Полинг и Роберт Кори с моделью α-спирали (1951). *Справа:* Лайнус Полинг держит в руках модель молекулы сульфаниламида (1954). Атомы в модели Полинга были изготовлены из дерева (в масштабе 1’’/Å) или пластика (0.5’’/Å). В 1954 году «за изучение природы химической связи и его применение к объяснению строения сложных молекул» Полинг был удостоен Нобелевской премии по химии [1, 4]. *Внизу:* Лайнус Полинг рассказывает о том, как он открыл α-спираль. *(Изображения*

и видео с сайта «Лайнус Полинг и гонка за ДНК».)
Немного сокращённый перевод речи Полинга:

> *«Однажды, когда я работал в Оксфорде (дело было в апреле 1948 года), я заболел, и после двух дней в постели, проведенных за чтением фантастики и детективов, я подумал: „А не открыть ли мне α-спираль?“, или что-то вроде этого. Чтобы понять, как устроена полипептидная цепь с учётом всех требований структурной химии и как водородные связи поддерживают структуру белка, я взял лист бумаги навроде этого <берет лист бумаги> и нарисовал на нем полипептидную цепь в распрямлённой конформации (кстати, этот лист остался у меня до сих пор). Я стал складывать лист бумаги так, чтобы угол между C_α-атомами соседних остатков составлял около 110° <складывает листок>, и после нескольких попыток сложил его таким образом, чтобы каждая NH и CO группа участвовала в образовании связи N-H···O=C. Я понял, что эта структура, присутствующая в белках, выделенных из волос, рога, ногтей и мышечных волокон, называемая α-спиралью, содержит 3.6 аминокислотных остатка на один виток спирали.»*

Джеймс Уотсон (*James Watson*) и Френсис Крик (*Francis Crick*), первооткрыватели структуры ДНК в форме двух комплементарных цепей, образующих двойную спираль, в своей работе также руководствовались молекулярными моделями. Их коллеги, занимавшиеся дифракцией рентгеновских лучей на образцах ДНК, — Морис Уилкинс (*Maurice Wilkins*) и Розалинд Фрэнклин (*Rosalind Franklin*) — несколько скептически относились к затее с моделями, полагая, что строение ДНК может быть определено исключительно из эксперимента. Однако именно «физические» модели вместе с гениальной догадкой о «комплементарности» цепей ДНК (основанной на «правилах Чаргаффа») позволили свершиться этому важнейшему открытию.

Уотсон, видимо, был настолько поражён элегантным открытием Полинга и его моделями, что в своей работе делал ставку главным образом на молекулярные модели как инструмент, с помощью которого можно было объяснить дифракционные данные, полученные Фрэнклин:

> *«Однако в ближайшие несколько дней ни одной серьезной модели мы не построили. Нам не только не хватало моделей пуриновых и пиримидиновых оснований, но мастерская так и не изготовила для нас ни одной модели атома фосфора. Для того чтобы сделать даже самые простые атомы фосфора, нашему механику требовалось не менее трех дней, а потому после обеда я пошел к себе в Клэр-колледж привести в порядок статью по генетике.»*
>
> *«Фрэнсис все больше тревожился из-за того, что я перестал работать над молекулярными моделями. … Чуть ли не каждый день после обеденного перерыва он то и дело раздраженно косился на заброшенный полинуклеотидный остов, зная, что я тем временем играю где-нибудь в теннис. … Брюзжание Фрэнсиса меня не беспокоило — усовершенствовать дальше наш последний остов не имело смысла, пока не будет решена проблема оснований.»*
>
> *Дж. Уотсон, «Двойная спираль» [3].*

Составные части моделей, с которыми работали Уотсон и Крик, были изготовлены в мастерских Кавендишской лаборатории по их собственным чертежам и схемам. Их модели были устроены иначе, чем модели Полинга: если у последнего атомы были выполнены в масштабе и заполняли пространство довольно плотно (*space filling*), то Уотсон и Крик работали с «проволочными» моделями, в которых атомы сравнительно небольшого радиуса были соединены отрезками медной проволоки, изображавшими химические связи (рис. 2).

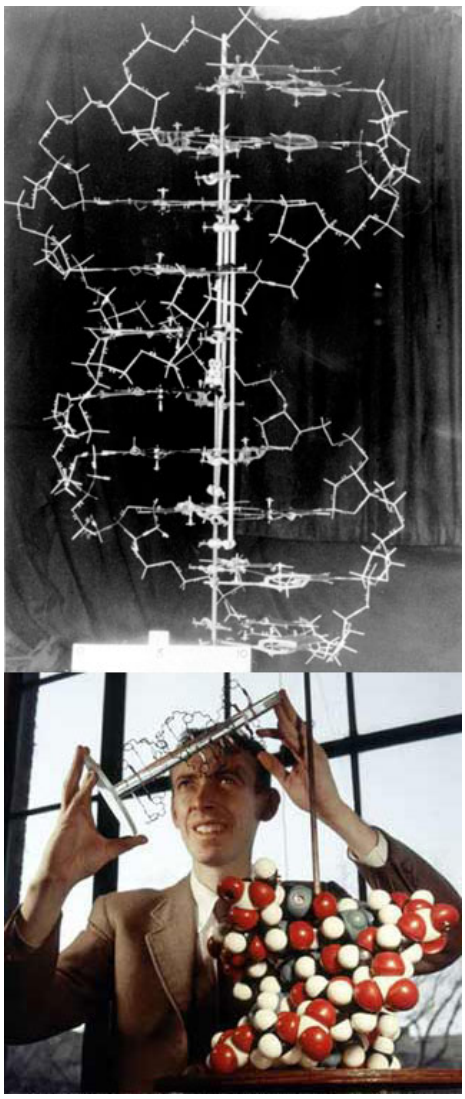

Рисунок 2. *Слева вверху:* Оригинальная модель двойной спирали ДНК, построенная Уотсоном и Криком. Увлекательная история об открытии этой структуры и роли других людей в данном исследовании (а также о том, как Полинг чуть не опередил их в открытии структуры ДНК, но пошёл ложным путём, решив, что молекула организована в виде тройной спирали) подробно описаны в книге Уотсона «Двойная спираль» [3]. *(Изображение из архивов лаборатории Колд Спринг Харбор.)Слева внизу:* Джеймс Уотсон с моделью ДНК (1957). В 1962 году совместно с Френсисом Криком и Моррисом Уилкинсом он был награждён Нобелевской премией по медицине за «открытия в области молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значимости для передачи генетической информации» [5]. К сожалению, Розалинд Фрэнклин, полноправный участник этого открытия, умерла от рака в 1958 году, а правила Нобелевского комитета не позволяют вручать премию посмертно. *Внизу:* Френсис Крик рассказывает об открытии структуры ДНК в виде двух антипараллельных комплементарных друг другу цепей, образующих двойную спираль, и демонстрирует молекулярную модель ДНК.

Модель Полинга оказалась очень удачной, и на её основе был разработан промышленный стандарт и выпущены многочисленные наборы для построения моделей молекул.

Модель Кори–Полинга–Колтуна: стандарт «молекулярного конструктора»

После того, как общественность осознала значение открытий, сделанных Полингом и Уотсоном, польза молекулярных моделей стала очевидной. Встала задача промышленного выпуска наборов, позволяющих без особых усилий собирать модели

молекул, поскольку предыдущее их поколение было ненадёжным, некачественным и дорогим в изготовлении. В мае 1960-го года комитет по биофизике и биофизической химии (Biophysics and Biophysical Chemistry Study Section) Национального Института Здравоохранения (НИЗ) США обратился к Уолтеру Колтуну (*Walter Koltun*) с просьбой создать промышленные спецификации для выпуска «молекулярного конструктора», основываясь на моделях, разработанных Полингом и Кори. Обоснование этой программы, рассчитанной на пять лет, было следующим:

> *«Модели атомов, доступные в настоящее время, обладают рядом недостатков. Некоторые из них основаны на металлических клипсах, самопроизвольно расстегивающихся при построении больших моделей. Они практически не обеспечивают подвижность молекулы и не позволяют варьировать углы и длины химических связей. Торсионный потенциал и способность атомов к образованию водородных связей также не учитываются. Кроме того, модели атомов, как правило, настолько тяжелы, что соединительные элементы не способны удерживать их в правильной конформации. Лёгкие же модели обладают недостаточной точностью. В добавок ко всему, эти модели дороги в изготовлении и стоят в среднем 75 центов за атом.» [6].*

В результате были созданы модели, учитывающие требования комитета (рис. 3). Они получили название «Новые модели атомов по Кори–Полингу с соединительными элементами Колтуна», или, для краткости, CPK-модели (Corey–Pauling–Koltun). Модели оказались настолько удачными, что используются до сих пор, а вид компьютерного изображения молекулы с атомами в виде сфер в масштабе ван-дер-ваальсовых радиусов атомов так и называется: CPK. Тогда же и была принята схема цветового обозначения атомов, популярная и по сей день: C — черный, N — синий, H — белый, O — красный.

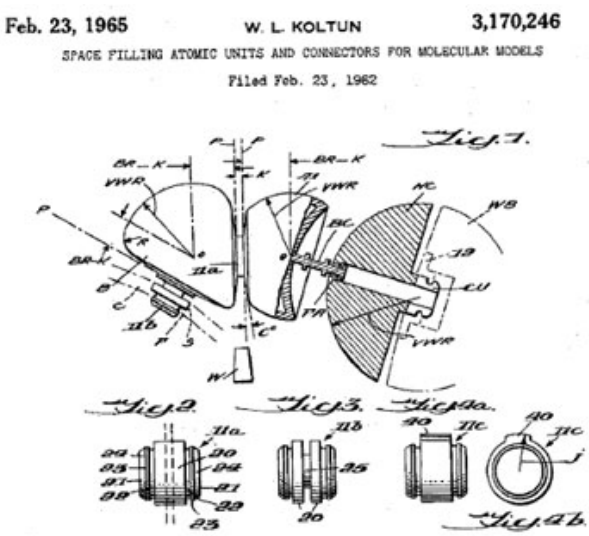

Рисунок 3.

Слева: Фрагмент рисунка из патента, выданного Колтуну на его изобретение (1962). Рисунок объясняет устройство соединительных элементов, используемых для сборки моделей. Модели атомов и соединительные элементы были спроектированы с учётом требований, выдвинутых комитетом разработчику (см. ниже). *Справа:* Модель молекулы дипептида ГЛУ–ТРП, собранная из CPK-конструктора, найденного в Лаборатории Моделирования Биомолекулярных Систем Института Биоорганической Химии РАН (краешек

пальца на фотографии мой. — *А. Ч.*).
Характеристики молекулярных моделей С-Р-К [6]:

> ***1. Размеры.*** Углы и длины связей, а также ван-дер-ваальсовы радиусы атомов должны соответствовать наиболее актуальным научным данным. Валентные углы должны воспроизводиться с допуском ±0°30’, длины связей — ±0.01 Å, а радиусы атомов — ±0.03 Å;***2. Масштаб*** должен составлять 1.25 см/Å. Этого достаточно для построения точных моделей при невысокой стоимости изготовления. Так, молекула с размерами 20×40×100 Å будет изображена моделью 25×50×125 см; ***3. Вес*** моделей атомов должен быть настолько мал, насколько это возможно (без нарушения остальных требований); ***4. Ограничение на вращение.*** Связи, не способные к вращению, должны быть зафиксированы. В остальных случаях вращение должно быть ограничено в соответствии с торсионным потенциалом; ***5. Водородные связи.*** В моделях должна присутствовать возможность образования водородных связей, столь существенных для функций макромолекул; ***6. Типы атомов.*** Разнообразие типов атомов в наборе должно позволять конструкцию всех практически важных типов биологических молекул; ***7. Спецатомы.*** Должна быть предусмотрена возможность изготовления спецатомов, важных в ряде случаев (хоть и не выпускаемых массово из-за редкого использования). Эти атомы должны быть совместимы с другими атомами в наборе; ***8. Соединительные элементы*** должны *(а)* надёжно фиксировать атомы; *(б)* позволять варьирование валентных углов в диапазоне ±8° без существенных усилий; *(в)* предотвращать самопроизвольное проворачивание групп атомов (до 50) под действием их собственного веса и не прогибаться более чем на 3° под этим весом и *(г)* позволять варьирование длин связей (в разумных пределах); ***9. Материалы и стоимость.*** Модели должны быть изготовлены из пластмассы со средней стоимостью около 15 центов за атом. Эта цена учитывает массовое производство и возможность государственной субсидии на изготовление сложных форм для отливки.

Каркасные («проволочные») модели

Первая пространственная структура белка, полученная Джоном Кендрю (*John Kendrew*) в 1958 году [7] с помощью анализа дифракции рентгеновских лучей на белковом кристалле, поразила учёных в первую очередь тем, что в ней не наблюдалось никакой симметрии. Многочисленные α-спиральные элементы в структуре миоглобина (именно этот белок исследовал Кендрю) располагались в пространстве прихотливым образом, подтверждая открытие Полинга о том, что α-спираль — один из основных типов укладки полипептидной цепи.

Первоначально полученная с пространственным разрешением 6 Å, модель позволяла различить лишь основную укладку белка, но не точное расположение боковых цепей аминокислотных остатков (рис. 4А). Дальнейшая оптимизация рентгенографической процедуры и применение вычислительной техники позволили поднять разрешение до 2 Å, и в результате была построена каркасная (или «проволочная») модель миоглобина в масштабе 5 см/Å. Модель, построенная из медных трубок, изготовленных в мастерских Кембриджа, располагалась внутри полого куба с ребром 2 м и поддерживалась ~2500

вертикальными металлическими палочками, затруднявшими её построение, восприятие и переноску (рис. 4В).

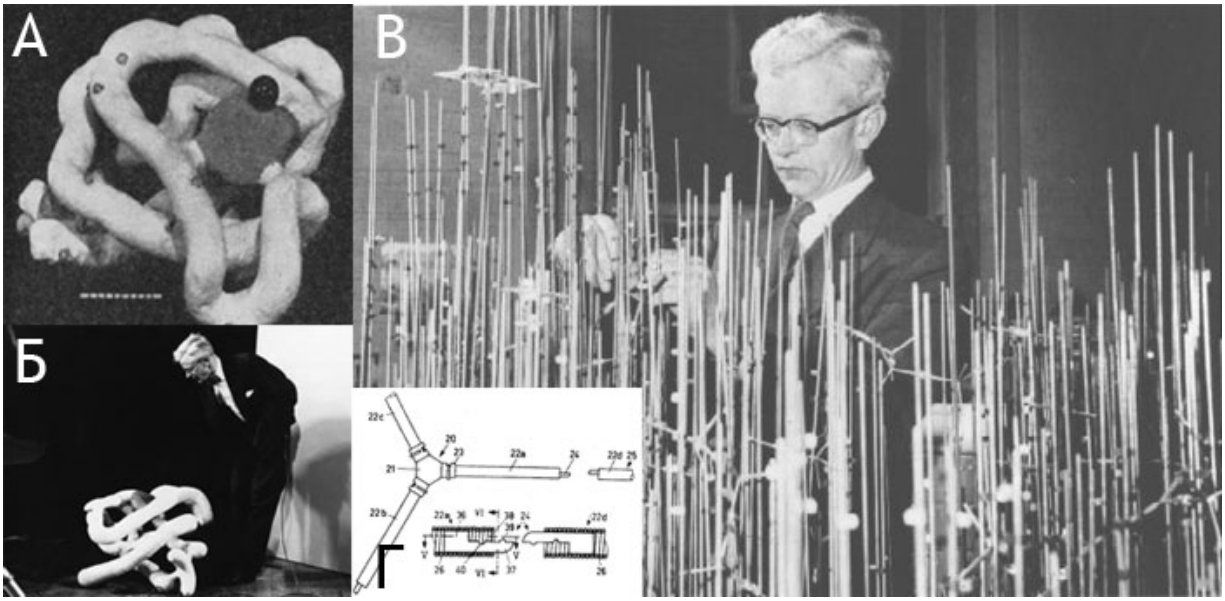

Рисунок 4. Модель молекулы миоглобина, построенная Кендрю и сотр. *А*. Фотография модели электронной плотности миоглобина, вылепленной из пластилина [7]. Белым цветом показана полипептидная цепь, серый диск соответствует гемовой группировке, сферами обозначены атомы тяжёлых металлов, использованные в процедуре изоморфного замещения. Короткий штрих на масштабной линейке равен 1 Å. *Б*. Кендрю демонстрирует модель миоглобина. *В*. Кендрю за изготовлением своей «проволочной» модели. Многочисленные вертикальные металлические палочки поддерживают полипептидную цепь. *Г*. Фрагмент изображения из патента, полученного Андре Дрейдингом (*Andre Dreiding*) на конструкцию каркасной молекулярной модели из нержавеющей стали.

Модель, построенная Кендрю, была очень сложна в обращении и почти не поддавалась модификации, и, когда потребовалось построить несколько копий этой модели по запросу других университетов и лабораторий, возникла проблема создания более надёжной и удобной конструкции. В решении этой задачи помог Баркер (*A.A. Barker*), сотрудник инженерной лаборатории в Кембридже. Начиная с 1965 года, он конструировал молекулярные модели различных биомолекул, включая ДНК, витамин B12, инсулин, α-спираль и др. Кендрю предложил Баркеру использовать компоненты, изготовленные Биверсом (*C.A. Beevers*), профессором химии из Эдинбургского университета, — небольшие пластиковые шарики диаметром 6.9 мм с просверленными в них с помощью специального устройства отверстиями, в которые вставлялись лёгкие металлические трубочки. В первые же годы (с 1966 по 1968) Кендрю поступило около 30 заказов на молекулярные модели миоглобина и других белков, изготавливаемые в масштабе 1 см/Å примерно за месяц на одну модель (рис. 5). Цена моделей была около 600$, что являлось весьма существенной суммой в те времена.

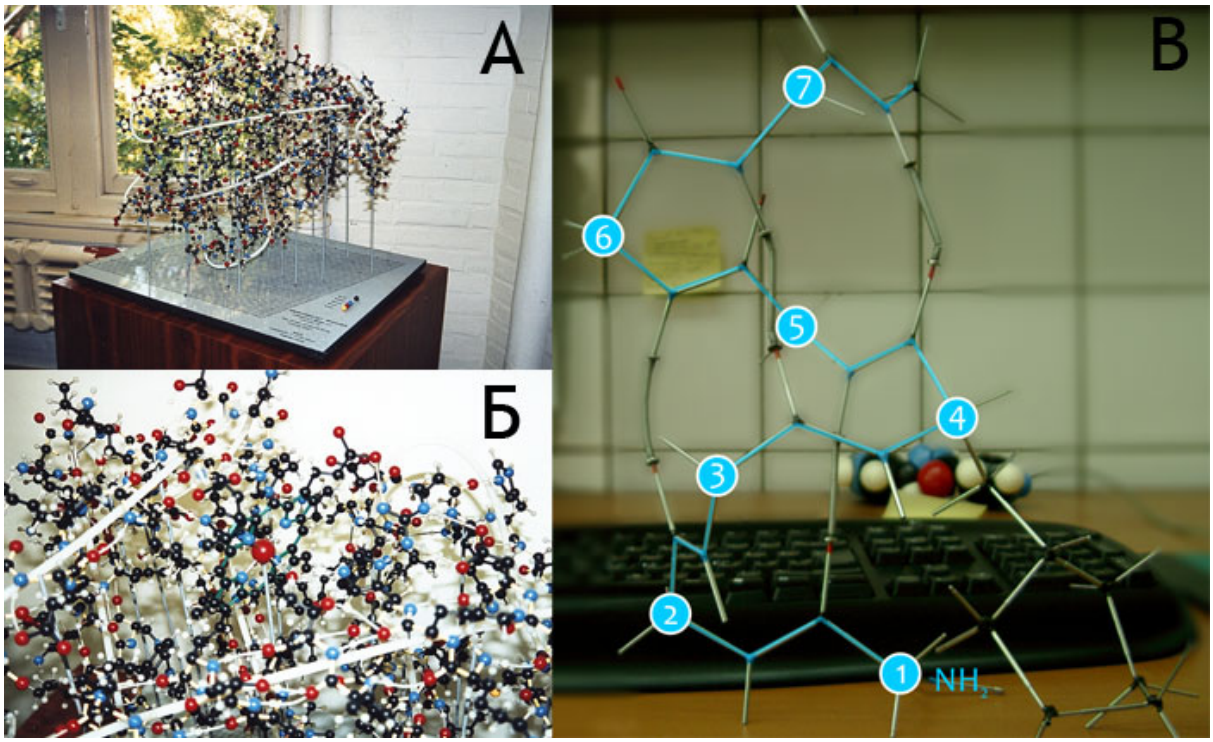

Рисунок 5. *А, Б.* Каркасные модели молекулы миоглобина, построенные Баркером. Главная цепь белка изображена белым шнуром. На подставке рядом с моделью (*А*) расположена «легенда» с расшифровкой использованных цветов и размеров атомов. Данный экземпляр модели принадлежит Бриттону Чансу (*Britton Chance*). *В.* Небольшой участок α-спирали, построенный из «проволочного» конструктора, найденного в Лаборатории Моделирования Биомолекулярных Систем. Для упрощения восприятия, ход главной цепи «подсвечен» голубой линией, а остатки пронумерованы по C_α-атомам. Водородные связи создаются с помощью специальных пружинок. (У четвертого остатка присутствует боковая цепь, построенная из «атомов» углерода в sp^3 гибридизации, поскольку других найдено не было, также как и отдельных моделей боковых цепей. Так что это не фенилаланин. — *А.Ч.*)

Модели, изображающие электронную плотность

Хотя первая пространственная структура белка была получена Джоном Кендрю, истинным первооткрывателем в данной области является другой человек — Макс Перутц (*Max Perutz*). Именно ему принадлежит идея изоморфного замещения, когда в определённые позиции белковой молекулы вводится атом тяжёлого металла, и на основании получаемых при этом искажений дифракционной картины появляется возможность установить структуру молекулы. В 1960 году Перутцем и его коллегами была получена пространственная структура гемоглобина [8] — белка существенно более сложного, нежели миоглобин.

Для визуализации пространственных карт электронной плотности Перутц использовал более количественный метод, чем Кендрю в своей первой структуре. Изопотенциальные области электронной плотности выпиливались из толстого куска пластмассы и скреплялись стопками, что позволило изобразить пространственную структуру молекулы (рис. 6).

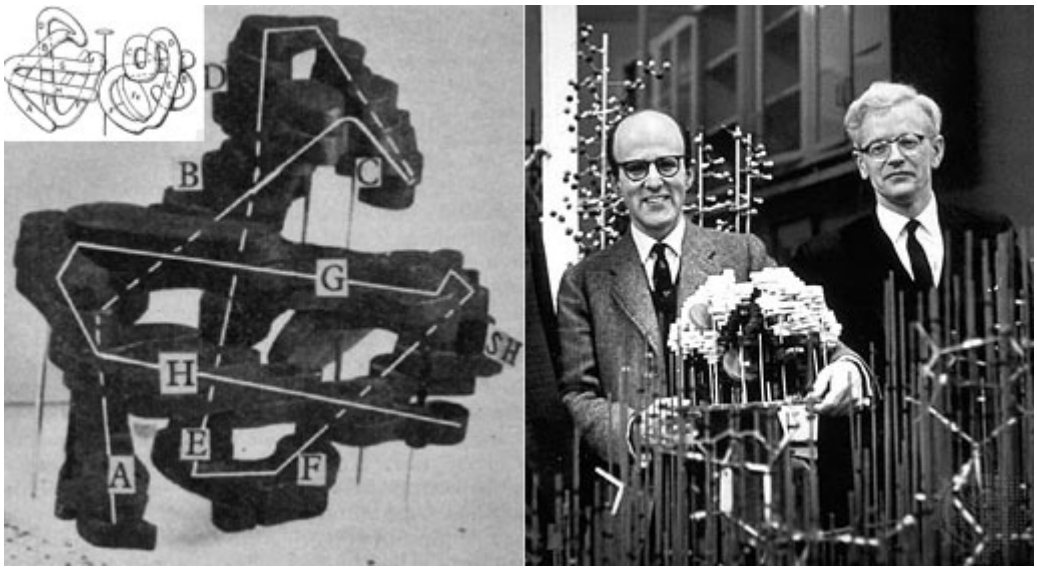

Рисунок 6. *Слева:* Модель электронной плотности β-субъединицы оксигемоглобина лошади [9] с пронумерованными α-спиральными элементами. В верхнем углу приведены «идеализированные» β-цепи гемоглобина (также показана ось двукратной симметрии). Две α-субъединицы, образующие аналогичную пару, тут не показаны. *Справа:* Макс Перутц с полной (тетрамерной) моделью электронной плотности молекулы гемоглобина и Джон Кендрю, каркасная модель молекулы миоглобина которого стоит на переднем плане. Фотография сделана в 1962 году на вручении Нобелевской премии по химии, которую Перутц с Кендрю получили «за исследования структуры глобулярных белков» [10].
Внизу: Макс Перутц рассказывает историю открытия структуры гемоглобина (9:45). Интервью было записано в 2001 году, незадолго до его смерти (Макс Перутц умер 6 февраля 2002 года).

Дальнейшая автоматизация построения моделей и «вписывания» их в трехмерные карты электронных плотностей была произведена Фредом Ричардсом (*Fred Richards*) и его коллегами. С помощью сконструированного ими оптического устройства, названного «коробкой Ричардса» (*Richards box*), двумерные изопотенциальные карты электронной плотности, построенные на кальке с помощью компьютера, переносились на прозрачные подложки и закреплялись с равными промежутками внутри «коробки». Полученные таким образом трёхмерные карты строились в том же масштабе, что и молекулярная модель (обычно 2 см/Å), и с помощью системы полупрозрачных зеркал оптически совмещались с моделью, причём «качество» совмещения можно было оценить немедля, без длительного измерения углов и расстояний (рис. 7). «Коробка Ричардса» была использована при расшифровке структуры рибонуклеазы [11], и до конца 1970-х оставалась стандартом *де-факто* при определении структур белков с помощью рентгеновской кристаллографии.

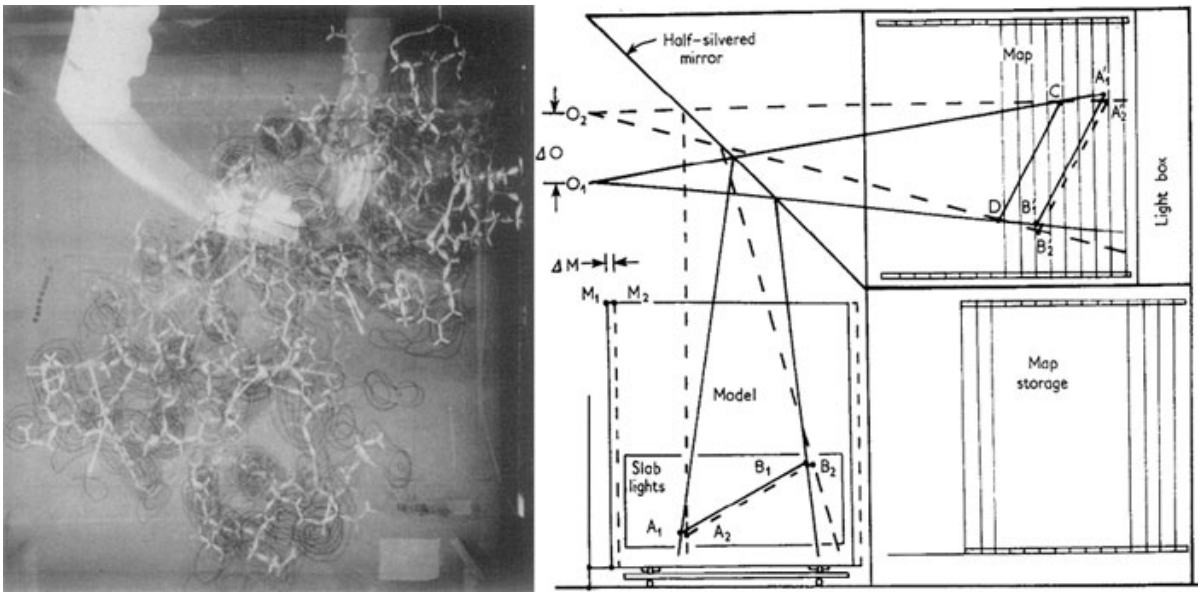

Рисунок 7. «Коробка Ричардса». *Слева:* Фотография, сделанная в процессе ручного «вписывания» модели рибонуклеазы-S в трехмерные карты электронной плотности [11] (устройство снимало стереоизображение; только одна из двух фотографий приведена здесь). Исследователь (видимо, Ричардс) занимается подстраиванием геометрии остатка ФЕН46 для лучшего соответствия карте электронной плотности. *Справа:* Схематическое устройство «коробки». Изображения воспроизведены из [12].

Другие модели полипептидной цепи

Молекулярные модели, описанные выше, были очень громоздки, тяжелы и сложны в изготовлении. Байрон Рубин (*Byron Rubin*) в начале 1970-х построил устройство, которое могло автоматически строить упрощённые модели белковых молекул (только контуры главной цепи по C_α-атомам, рис. 8А), изгибая толстую проволоку согласно заложенной в него программе. Модели, построенные на «сгибателе Байрона» (именно так назвали машину), были весьма компактны, легки и очень наглядны (хотя и, понятно, не могли обеспечить того уровня подробности, как модели, включающие атомы боковых цепей). Важность наглядного представления молекулы белка (пусть и в упрощённой форме) вскоре была подтверждена на практике. На одну из научных конференций в середине 70-х, когда уже было известно более десятка белковых структур, Дэвид Дэвис (*David Davies*) привёз модель антиген-связывающего домена иммуноглобулина (Fab-фрагмент), а Джейн и Дэвид Ричардсон (*Jane* и *David Richardson*) — модель супероксид-дисмутазы, построенные на сгибателе Байрона. Разглядывая модели, исследователи поняли, что их пространственное строение очень близко, несмотря на то, что идентичность аминокислотных последовательностей этих белков не превышает 9%. Так впервые был обнаружен иммуноглобулиновый домен, позже найденный во множестве других белков, непосредственно не связанных с иммунитетом.

Позже (в 1982 г.) была представлена Блэкуэлльская модель (*Blackwell Molecular Models*), также предназначенная для изображения конформации главной цепи белка, но существенно более сложная и точная, чем «сгибатель». Пластмассовые шарики двадцати разных цветов, соответствующие различным аминокислотам, были снабжены парой прецизионных шарниров, позволявших фиксировать двугранные и «валентные» углы, задающие конформацию полипептидной цепи (значения углов φ и ψ тут не определены, поскольку одному остатку соответствует только один «атом», рис. 8Б). Необходимые для построения модели расчёты координат «атомов» проводились

на компьютере, оптимизируя геометрию молекулы с тем, чтобы длины «связей» в модели были равны 3.8 см. В это время были предложены и другие системы для построения «физических» молекулярных моделей (рис. 8В), но я на них подробно останавливаться не буду.

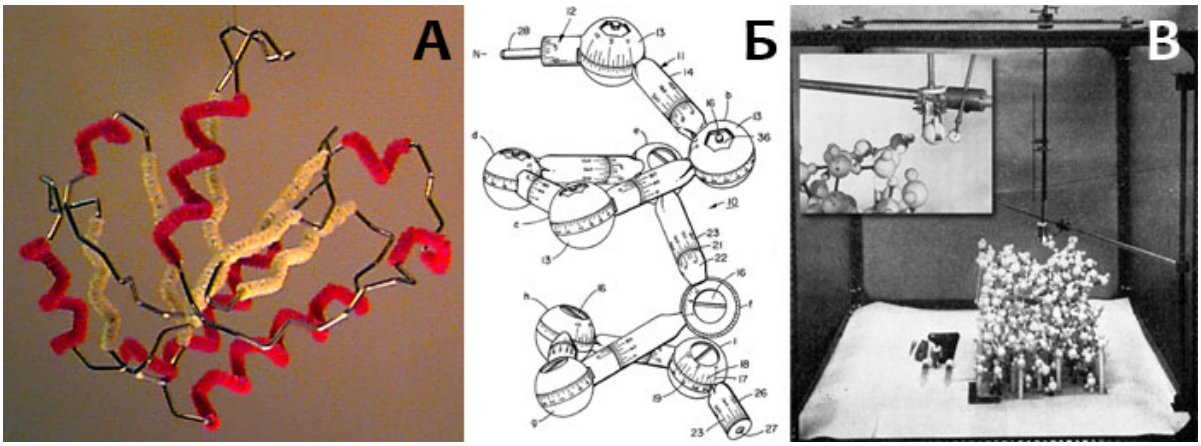

Рисунок 8. *А.* Каркасная модель основной цепи l-домена интегрина CD11a (код PDB: 1LFA), построенная на сгибателе Байрона. α-Спирали обёрнуты красным поролоном, β-листы — жёлтым. Сгибатель Байрона выпускался вплоть до конца 1990-х. Тим Герман (*Tim Herman*) — автор изображённой модели — стал одним из последних его пользователей, применяя аппарат на занятиях во многих университетах США. *Б.* Рисунок из патента, полученную на Блэкуэлльскую молекулярную модель. *В.* «Простое устройство» для автоматического конструирования сложных молекулярных моделей (“A simple jig for building complex molecular models” [14]).

С течением времени всё большее значение в визуализации биомакромолекул и построении кристаллографических моделей белков стали приобретать компьютеры, но конструкция «физических» моделей не канула в лету: кроме учебных применений, они стали объектом особой области искусства — «молекулярной» скульптуры.

«Молекулярная» скульптура

Вскоре после создания «сгибателя» Байрон Рубин адаптировал свою машину к «сырью» более крупного диаметра, и построил модель рубредоксина из труб, используемых для автомобильных глушителей. Он и по сей день занимается молекулярной скульптурой (рис. 9А,Б). Гроссман (*Bathsheba Grossman*) занимается лазерной гравировкой биомолекул в стеклянных блоках (рис. 9В,Г), Восс-Андре (*Julian Voss-Andreae*) создаёт модели молекул из металла (рис. 9Д), Мейер (*Edgar Meyer*) — из дерева. Эвард (*Kenneth Eward*) ведет виртуальный музей молекулярной скульптуры. Возле института Биоорганической Химии РАН в Москве стоит памятник комплексу валиномицина с ионом калия (рис. 9Е).

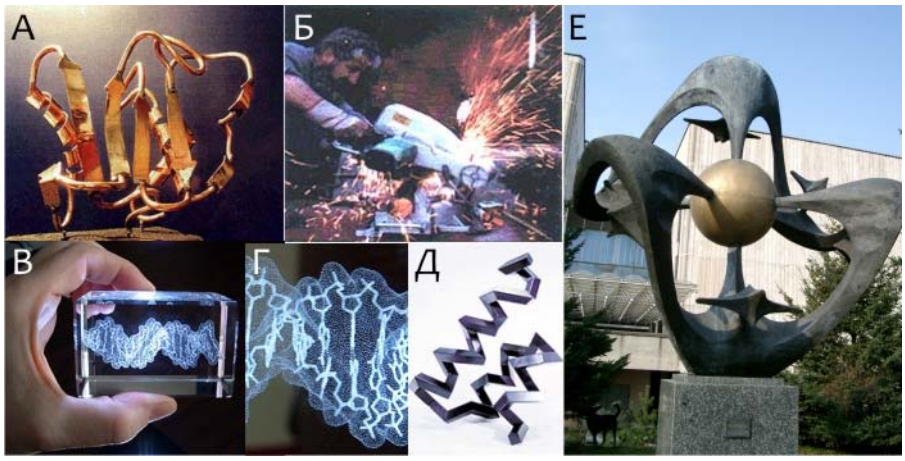

Рисунок 9. Молекулярная скульптура. *А.* Скульптура коллагеназы, выделенной из нейтрофилов человека, изваянная Байроном Рубином (© 2001) (выставлена около Смитсоновского института в штате Вашингтон, США). Высота около 30 см. *Б.* Байрон Рубин за работой. *В,Г.* Изображение молекулы ДНК, выгравированное с помощью лазера в стеклянном параллелепипеде (изготовлено Гроссманом). *Д.* Скульптура «Феромон», изготовленная из нержавеющей стали Восс-Андре (высота 90 см). *Е.* Скульптура «Валиномицин», установленная около входа в институт Биоорганической химии в Москве, «изображает комплекс антибиотика валиномицина с ионом калия». «Общий принцип связывания ионов металлов и их перенос через мембраны с помощью ионофоров был открыт в институте в 1963 году.» *(Из надписи на табличке.)*

В настоящее время при построении физических моделей молекул могут использоваться технологии трехмерного прототипирования — такие как «трехмерные» принтеры, слой за слоем создающие трехмерный объект по заданной компьютером программе. *(Подробнее о молекулярной скульптуре можно почитать в «Компьютерре» [23])*

Начало компьютерной эры в визуализации молекул

Первая система компьютерной визуализации

Уже в 1964 году Сайрус Левинталь (*Cyrus Levinthal*) и его коллеги в Массачусетском Технологическом Институте (МТИ) разработали электронную систему, изображавшую основную цепь белка на экране осциллографа с возможностью вращения этой модели с помощью специального трекбола. Расчёты, необходимые для вывода картинки на экран осциллографа (рис. 10), производились на одном из первых мейнфреймов (проект «Multi-Access Computer»).

> *«Пока еще невозможно оценить все преимущества, которые может дать компьютер при решении современных проблем молекулярной биологии. Однако, очевидно, что комбинация человек-машина может быть чрезвычайно эффективной. Уже показано, что компьютер может использоваться для построения и визуализации крупных молекул, и это его применение весьма полезно для понимания механизмов функционирования молекул. В то же время, не один год пройдёт, прежде чем полностью будет*

осознано, насколько важно интерактивное общение с компьютером в процессе построения модели белка». — Пишет Левинталь [15].

Рисунок 10. Система молекулярного моделирования Левинталя. *Слева:* Экран (электронно-лучевая трубка) осциллографа с выведенной на нём моделью белкового остова. Вращение молекулы на экране контролируется с помощью стоящей рядом полусферы-«трекбола». *Справа:* Общий вид системы. (Фото Мартина Цвика (*Martin Zwick*).) *Внизу слева:* Фильм «Белки» (1966), переснятый с экрана Левинталевской системы на 16-мм киноплёнку (эпизод «Миоглобин», показывающий структуру, полученную Кендрю (см. § 2.3)). *Внизу справа:* Фильм «Кристаллографическая структура димера инсулина» (эпизод, показывающий общий вид белкового остова). Фильм снят в 1971 году в лаборатории Компьютерных систем университета Вашингтона.

Сайрус Левинталь

После своей плодотворной работы в МТИ, Левинталь был профессором в Колумбийском университете с 1968 года до своей смерти в 1990-м [16]. За более чем 50 лет активной научной жизни он внес вклад в решение таких разнообразных научных проблем, как молекулярная генетика вирусов, генетический код, роль и метаболизм матричных РНК, взаимодействие вирусов с бактериальной клеткой, фолдинг и структура белка, изображение белковых молекул на экране компьютера. Фактически, его можно считать «отцом» области компьютерной визуализации биомакромолекул.

В области теоретической молекулярной биофизики он известен, прежде всего, своим «парадоксом Левинталя» [17], согласно которому белковая молекула в растворе никогда не сможет свернуться в «нативную» конформацию, если будет по очереди перебирать все возможные состояния. Краткая научная автобиография Левинталя и перечень основных его достижений доступны на сайте Колумбийского университета.

«Электронные “коробки” Ричардса»

Развитие компьютерных систем визуализации биомолекул стало ускоряться. В 1965 году Кэрролл Джонсон (*Carroll Johnson*) представил программу ORTEP, способную создавать

стереоизображения молекул для печати на плоттере. В середине 1970-х была получена первая кристаллографическая структура белка без построения физической модели, решённая и визуализованная целиком на компьютере [18]. При этом использовалась программа GRIP, положившая начало «электронным “коробкам” Ричардса» — классу компьютерных программ, позволяющих «вписывать» компьютерную модель структуры молекулы в экспериментально полученные карты электронной плотности без изнуряющего ручного измерения углов и расстояний, необходимого при «классическом» подходе, основанном ещё Кендрю (см. § 2.3). Подробнее об эволюции кристаллографических программ можно прочитать в книге Коннолли (*Michael Connolly*) «Молекулярные поверхности» [19].

«Новые» алгоритмы молекулярной графики

Исследования в области фолдинга белка и попытки анализа распределения гидрофобных свойств на поверхности (в контакте с растворителем) и «внутри» молекул привели к формулировке понятия «поверхности молекулы, доступной растворителю». Согласно определению, данному Ли и Ричардсом (*B.K. Lee* & *Fred Richards*, [20]), этот тип поверхности задаётся геометрическим местом центров сфер, «обкатывающих» ван-дер-ваальсову поверхность молекулы и имеющих радиус, соответствующий «эффективному» радиусу молекулы растворителя (для воды чаще всего используется значение 1.4 Å). Эта концепция, впоследствии модифицированная Коннолли, оказалась очень успешной и до сих пор чрезвычайно активно используется для визуализации поверхности биомакромолекул [19, глава 5 — «Поверхность, доступная растворителю»].

Немного позже был разработан компьютерный алгоритм построения закрашенных поверхностей с учётом теней [21]. Это произвело целую революцию в компьютерной графике, поскольку позволяло показывать молекулы с совершенно новым уровнем наглядности, хоть в то время эта возможность была доступна лишь на самых мощных машинах.

«Новый облик» биомакромолекул стал использоваться повсеместно: в 1980 году Подразделение Компьютерных Технологий НИЗ США выпустило набор цветных учебных стереоскопических слайдов («Teaching Aids for Macromolecular Structure», TAMS) с изображением структур белков и простое устройство для их просмотра (рис. 11). В этот обучающий набор вошло 116 слайдов по темам: пептидная связь, α-спираль, β-структура, третичная и четвертичная структуры белка, кофакторы, активные сайты и др. Слайды были пересняты с экрана передового на тот момент компьютерного устройства, оперировавшего всего одним байтом информации на пиксел изображения, но даже эти 256-цветные картинки в то время выглядели очень впечатляюще.

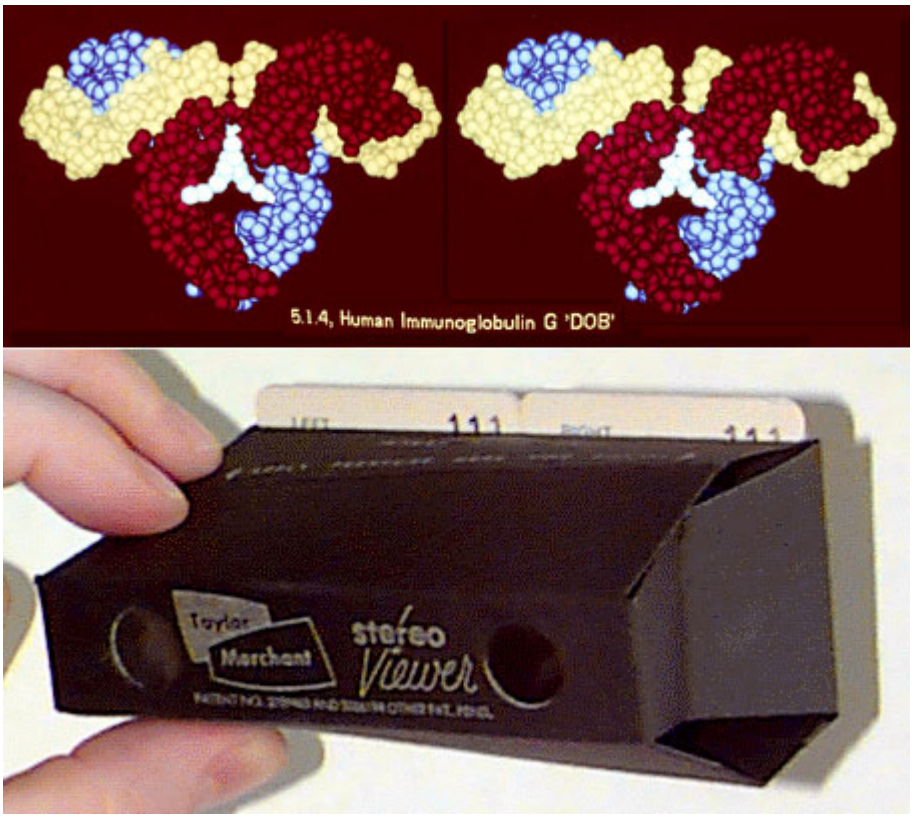

Рисунок 11. Стереослайды для образовательных целей (TAMS). *Сверху:* Иммуноглобулин “DOB” человека (только C_α-атомы). Лёгкая цепь показана жёлтым цветом, тяжёлые — красным и голубым. Молекула углевода окрашена в бирюзовый цвет. *Снизу:* Устройство для просмотра слайдов на просвет (“Tailor Merchant 101”).

Компьютеры «Эванс и Сазерленд»

В 1980-х наиболее популярной компьютерной системой среди кристаллографов была платформа, разработанная фирмой «Эванс и Сазерленд» (“Evans & Sutherland”), выполняющей кроме всего прочего многие заказы министерства обороны США (в том числе и космической тематики). Эти компьютеры, стоившие в 1985 году 250 000$, умели отображать карты электронной плотности и позволяли производить ручное «вписывание» молекулярных моделей в карту. Цветной дисплей компьютера, показывавший лишь скелетное представление молекул, позволял производить вращение молекул в реальном времени. Эта система основывалась на сопроцессоре векторной графики, содержавшем несколько аппаратных блоков по работе с матрицами (перемножение, сложение векторов, расчет детерминантов и пр.). Компьютеры E&S использовали кристаллографическую программу FRODO, позже развившуюся в TURBO-FRODO и давшую начало другой популярной в 90-х годах кристаллографической программе — “O”. Один из компьютеров, выпускавшихся E&S (хотя не из числа тех, что использовались кристаллографами), показан на рис. 12.

Рисунок 12. Фотография одного из ранних компьютеров «Эванс и Сазерленд». Иван Сазерленд (*Ivan Sutherland*, слева) и Дэйв Эванс (*Dave Evans*, справа) на фоне компьютера LDS-1 (*Line Drawing System—1*).

Первые программы молекулярной визуализации для персональных компьютеров

Одними из пионеров «народной» молекулярной компьютерной графики являются Дэвид и Джейн Ричардсон, которые в 80-х занимались разработкой соответствующих программ в университете Дюка. В 1992-м вышла программа Kinemage (**kine**tic i**mage**) за авторством Ричардсонов, разработанная для компьютеров Макинтош, и получила чрезвычайно широкое распространение (поскольку эти компьютеры были несравненно более доступны «рядовым» учёным и студентам, нежели баснословно дорогие E&S). Программа, описанная в первом номере *Protein Science* за 1992 год [22], поставлялась на дискетке, вложенной в обложку журнала.

Вскоре после этого появилась программа RASMOL (**Ras**ter **Mol**ecules), позволявшая привнести истинную интерактивность в изучение произвольной молекулярной структуры. Роджер Сэйл (*Roger Sayle*), автор программы, ещё будучи студентом, написал невероятно быстрый алгоритм трассировки лучей (использующийся для построения «объёмных» молекулярных рисунков), который лёг в основу RASMOL'а. С 1990-го года Роджер под руководством кристаллографа Эндрю Кулсона (*Andrew Coulson*) развивал свой алгоритм, пока не адаптировал его к однопроцессорным «персоналкам» под управлением UNIX, а позднее — и Windows, и Macintosh (ранние версии его алгоритма были заточены под специализированные многопроцессорные компьютеры). В 1993 году вышла программа RASMOL (первые три буквы её названия совпадают с инициалами автора — *R.A.S.*), которая была сделана бесплатной вскоре после того, как Роджер защитил диссертацию, — как в виде дистрибутива, так и в виде исходных кодов. RASMOL получил очень широкое распространение, а его «исходники» были использованы в массе других программ молекулярной графики.

На этом я намеренно заканчиваю обзор средств визуализации структуры биомакромолекул, поскольку, начиная с середины 1990-х годов, средства компьютерной молекулярной графики начали развиваться столь бурно, что описать все их направления попросту невозможно. Интересующиеся отсылаются к сайту «Каталог ресурсов молекулярной визуализации», одному из самых полных ресурсов по этой теме.

Последнее, что хотелось бы отметить, — чрезвычайная простота визуализации молекул, достигнутая в наше время (не нужно ничего, кроме самого простого компьютера и интернета), стала скорее затмевать механизмы работы молекул для рядовых пользователей программ визуализации, нежели прояснять их. Если раньше модель структуры молекулы становилась вершиной работы мысли учёного, то теперь, благодаря успехам структурной геномики и развитию компьютерных технологий, вывести на экран и покрутить молекулу белка не представляет ни малейшей сложности.

Так что, как говорил один преподаватель в Университете, «любование красивыми картинками не должно заменять понимания сути вещей».

По материалам статьи: На заре молекулярной графики. А.Чугунова. (http://biomolecula.ru/content/50)

Литература

1. Зоркий П.М. — «ЛайнусПолинг — величайший химик XX столетия»;
2. «Классический „белковый“ номер» “Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.”, содержащий семь статей за авторством Полинга и Кори, идущих подряд — *PNAS* **37** (1951);
3. Уотсон Дж.Д. «Двойная спираль. Воспоминания об открытии структуры ДНК». М.: Мир, 1969 (в интернете);
4. Нобелевские лауреаты. Лайнус Полинг. Электронная библиотека «Наука и Техника»;
5. Нобелевские лауреаты. Джеймс Уотсон. Электронная библиотека «Наука и Техника»;
6. Koltun, W.L. (1965). Precision space-filling atomic models. *Biopolymers* **3**, 665–679 (в интернете);
7. Kendrew, J.C., Bodo, G., Dintzis, H.M., Parrish, R.G., Wyckoff, H., Phillips, D.C. (1958). A Three-Dimensional Model of the Myoglobin Molecule Obtained by X-Ray Analysis. *Nature* **181**, 662–666 (в интернете);
8. Perutz, M.F., Rossmann, G., Cullis, A.F., Muirhead, H., Will, G., North, A.C.T. (1960). Structure of Hæmoglobin: A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 5.5 Å Resolution, Obtained by X-Ray Analysis. *Nature* **185**, 416–422 (в интернете);
9. Muirhead, H., Perutz, M.F. (1963). Structure of hæmoglobin: A three-dimensional Fourier synthesis of reduced human hæmolgobin at 5.5 Å resolution. *Nature* **199**, 633–638 (в интернете);
10. Нобелевские лауреаты. Макс Перутц. Электронная библиотека «Наука и Техника»;
11. Wyckoff, H.W., Hardman, K.D., Allewell, N.M., Inagami, T., Johnson, L.N., Richards, F.M. (1967). The structure of ribonuclease-S at 3.5 Å resolution. *J. Biol Chem.* **242**, 3984–3948 (в интернете);
12. Richards, F.M. (1968). The matching of physical models to three-dimensional electron-density maps: A simple optical device. *J. Mol. Biol.* **37**, 225–228 (в интернете);
13. Richardson, J.S., Richardson, D.C., Thomas, K.A., Silverton, E.W., Davies, D.R. (1976). Similarity of three-dimensional structure between the immunoglobulin domain and the copper, zinc superoxide dismutase subunit. *J. Mol. Biol.* **102**, 221–235 (в интернете);

14. Heathman, S.P., Nicholas, J.D., Timmins, P.A., Finney, J.L. (1976). A simple jig for building complex molecular models. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **9**, 143–145 (в интернете);
15. Levinthal, C. (1966).Molecular Model-Building by Computer. *Scientific American* **214**, 42–52 (в интернете);
16. Honig, B. (1991). In memoriam: Cyrus levinthal. *Proteins* **11**, 239–241 (в интернете);
17. Zwanzig, R., Szabo, A., Bagchi, B. (1992). Levinthal's Paradox. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **89**, 20–22 (в интернете);
18. Beem, K.M., Richardson, D.C., Rajagopalan, K.V. (1977). Metal sites of copper-zinc superoxide dismutase. *Biochemistry* **16**, 1930–1936 (в интернете);
19. Connolly, M. (1996). «Molecular Surfaces: A Review»;
20. Lee, B., Richards, F.M. (1971). The interpretation of protein structures: Estimation of static accessibility. *J. Mol. Biol.* **55**, 379–400 (в интернете);
21. Porter, T.K. (1978). Spherical shading. *ACM SIGGRAPH Computer Graphics* **12**, 282–285 (в интернете);
22. Richardson, D.C., Richardson, J.S. (1992). The kinemage: A tool for scientific communication. *Protein science* **11**, 3–9 (в интернете);
23. Чугунов А.О. (2007). Изваяние невидимого (Молекулярная скульптура). *Компьютерра* **712**, 24–26 и **713**, 26–28. *В формате pdf:* часть 1 (216 кб), часть 2 (455 кб).