

COMPUTER SIMULEERT BIOLOGISCHE PROCESSEN

De eiwitvouwbarrière

HET VERKEERD VOUWEN VAN EIWITTEN SPEELT EEN BELANGRIJKE ROL BIJ ZIEKTES ALS ALZHEIMER OF PARKINSON. 'IK BEN ERVAN OVERTUIGD DAT WE OP DEN DUUR VRIJ NAUWKEURIG EN BETROUWBAAR MET SIMULATIES HET GEDRAG VAN EIWITTEN KUNNEN VOORSPELLEN', ALDUS PROF.DR. HELMUT GRUBMÜLLER, ONDERZOEKER VAN HET MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR BIOFYSIKALISCHE CHEMIE. DE VRAAG IS ALLEEN: WANNEER? WANT ZELFS DE COMPUTER KAN DE EIWITVOUWBARRIÈRE ONTMOETEN.

INZICHT IN HOE MOLECULEN ZICH ruimtelijk groeperen en zich met elkaar verbinden, van eenvoudige tot zeer ingewikkelde structuren met een complexe spaghetti-achtige geometrie. Dat is waar het in de moleculaire dynamica, kortweg MD, om gaat. Zodat kan worden verklaard hoe eiwitten zichzelf opvouwen tot een molecuul dat er uitziet als een in de knoop geraakt spiraal-snoer van de telefoon.

Aan het begin van de twintigste eeuw rekenden de eerste moleculaire dynamici nog slechts aan simpele gassystemen. Maar sinds de introductie van de computer is simulatie hoe de natuur grote moleculen assembleert een razendsnel groeiend onderzoeksveld geworden in de biologie.

Tegenwoordig is het al een fluitje van een cent om virtueel een celwandje na te bouwen met, bijvoorbeeld, daarin een molecuul aquaporine (een waterfilterend eiwitmolecuul). In een paar minuten heeft Frank Wiederschein van de simulatieafdeling van het Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in het Duitse Göttingen uit de eiwitdatabank alle ingrediënten bij elkaar om de computersimulatie op molecuulniveau uit te voeren. 'Doosje' eromheen en laat de computer maar rekenen.

Dat dit allemaal zo gemakkelijk is geworden, danken we aan de steeds snellere en krachtiger computers, de ontwikkelaars van MD-programmatuur, maar zeker ook aan al die noeste werkers in de wetenschap die zich onledig hebben gehouden met het bepa-

len van de krachten die atomen en moleculen op elkaar uitoefenen én aan de mensen die met veel doorzettingsvermogen de structuren van eiwitmoleculen hebben ontrafeld.

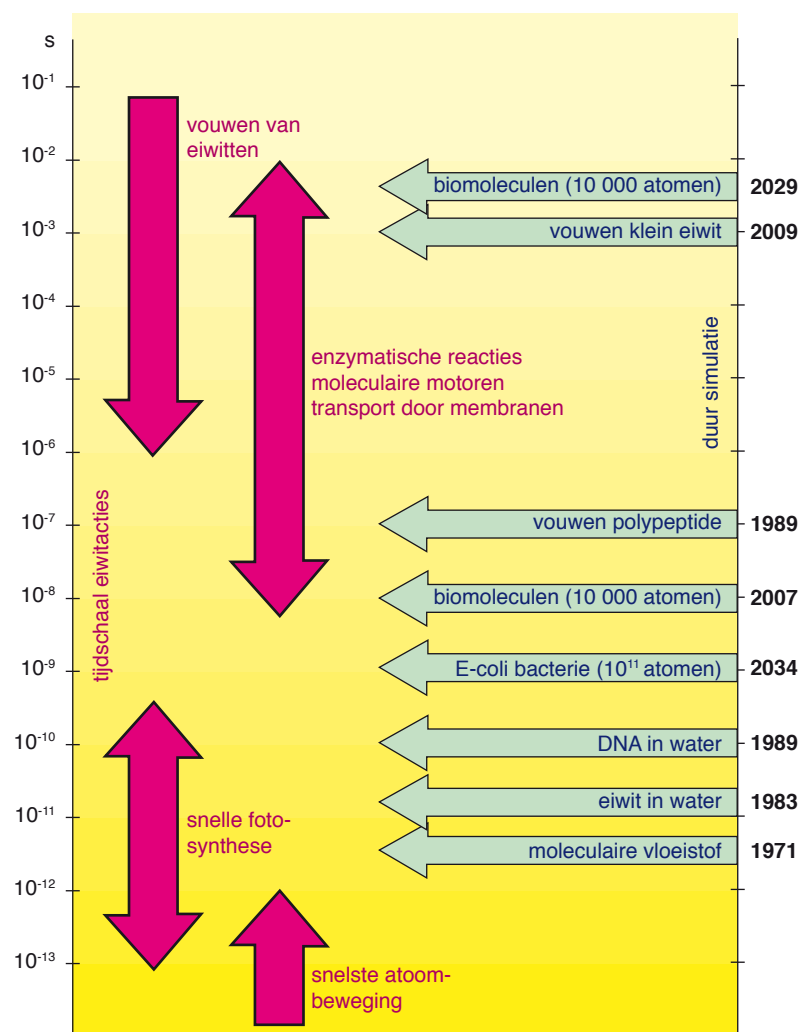
Het is snel gegaan. Dr. Alex de Vries van de Rijksuniversiteit Groningen weet nog hoe prof.dr. Siewert Jan Marrink, tegenwoordig hoogleraar in Groningen, in 1994 promo-

veerde op een simulatie van 1 ns waarin zestig lipidemoleculen een celwand vormen. 'Nu doen we een simulatie van 1 µs met honderd keer zoveel moleculen.'

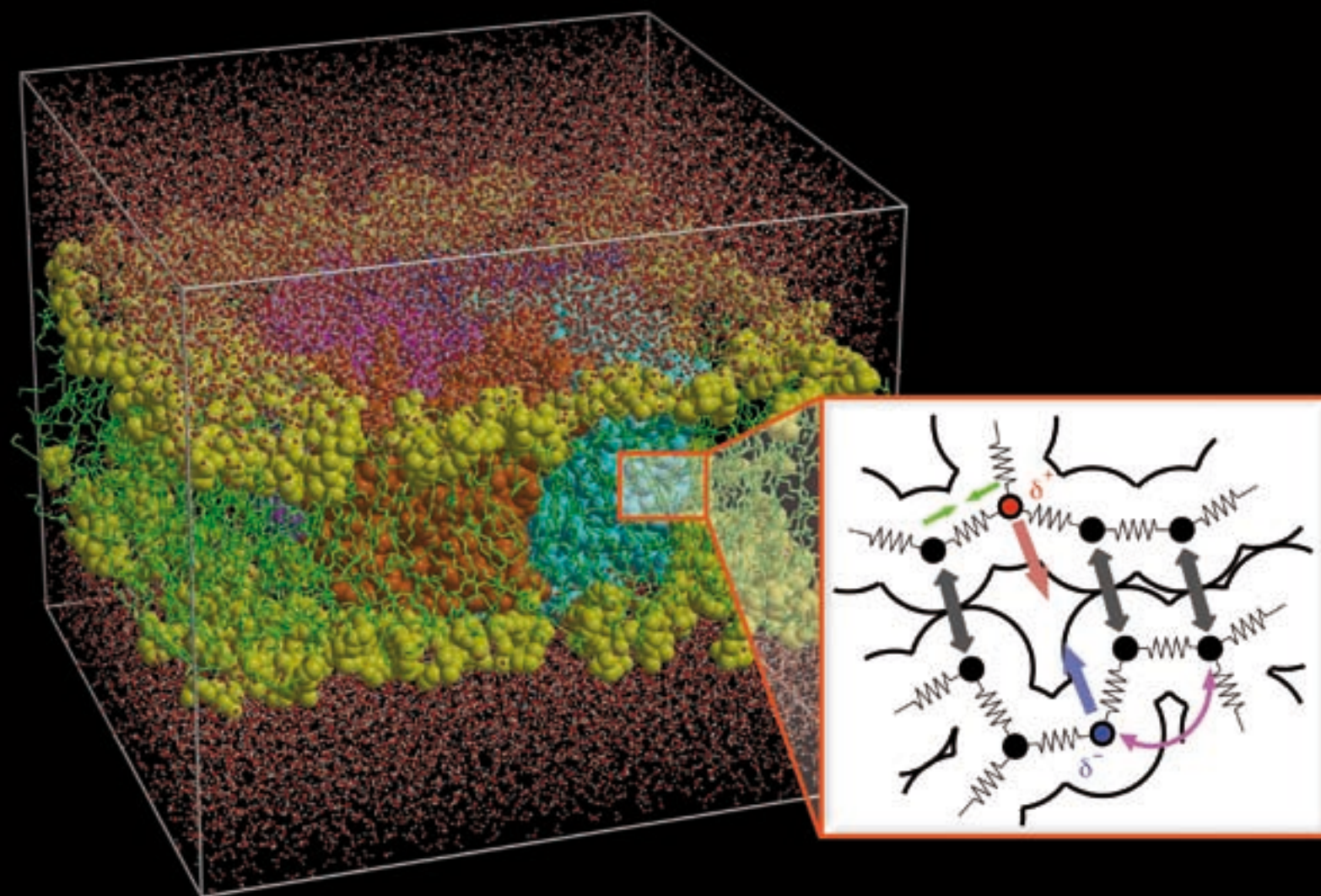
Groningen heeft sowieso een belangrijke rol in de MD gespeeld met mensen als Berendsen (inmiddels met emeritaat) en Van Gunsteren (tegenwoordig werkzaam aan Eidgenössische Technische Hochschule ETH in Zürich). 'De eerste MD in praktische zin komt uit de VS met namen als Andrew McCammon en Martin Karplus, maar hier in Groningen is de zaak snel opgepakt.'

NANOSECONDEN

Prof.dr. Herbert Grubmüller, hoofd van de MD-afdeling van het Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, schetst de vooruitgang: 'We kunnen nu met een stevige computer een simulatie maken van 100 ns van een systeem van een miljoen atomen. Dat is ongeveer de grootte van een virus. Of van een systeem van honderdduizend atomen gedurende 1 µs. Dan praten we over een celmembraanmolecuul als aquaporine. Dat is al vele malen meer dan we vijf jaar geleden konden, maar dat betekent toch dat nog vele processen in de cel onbereikbaar zijn voor MD, zoals het probleem hoe eiwitten vouwen. Het verkeerd vouwen van eiwitten speelt een belangrijke rol bij ziektes als Alzheimer of Parkinson. Maar computers worden steeds sneller, algoritmes beter en het is een niet al te gewaagde



Tijdschaal waarin de activiteit van eiwitten zich afspeelt, en het jaar waarin een bepaalde duur van computersimulatie van die biologische processen is bereikt.



Momentopname van de simulatie van het eiwit aquaporine, dat het watertransport regelt. Het eiwit, dat uit verschillende bouwstenen bestaat, bevindt zich tussen twee membranen (geel) en is omringd door watermoleculen (rood-wit). De simulatie omvat honderdduizend atomen en beschrijft een tijdsverloop van 10 ns. De inzet toont de interacties waarmee is gerekend.

voorspelling dat die beperking minder wordt of zelfs geheel verdwijnt.'

Daar is ook niet meteen een supercomputer voor nodig. Groningen gebruikt vaak clusters van pc's. De Vries: 'Het project Folding at home in de VS is opgezet om het eiwitvouwprobleem op te lossen met huiscomputers. Dat kan ook.' De truc in MD is deels, aldus De Vries, 'dat je precies net zoveel moleculen gebruikt als nodig zijn voor het beantwoorden van je vraag. We houden ons hier voornamelijk bezig met het berekenen van de fysische eigenschappen van lipiden. We praten dan over simulaties van 100 ns met tweehonderd lipidemoleculen en drieduizend watermoleculen. Vaak is dat voldoende.'

Ondanks die vooralsnog vrij beperkte middelen heeft computer-MD zich volgens Grubmüller al ten volle bewezen. 'Het eerste historische wapenfeit in de biologie is dat met simulatie duidelijk is geworden hoe zuurstofmoleculen binden aan myoglobine

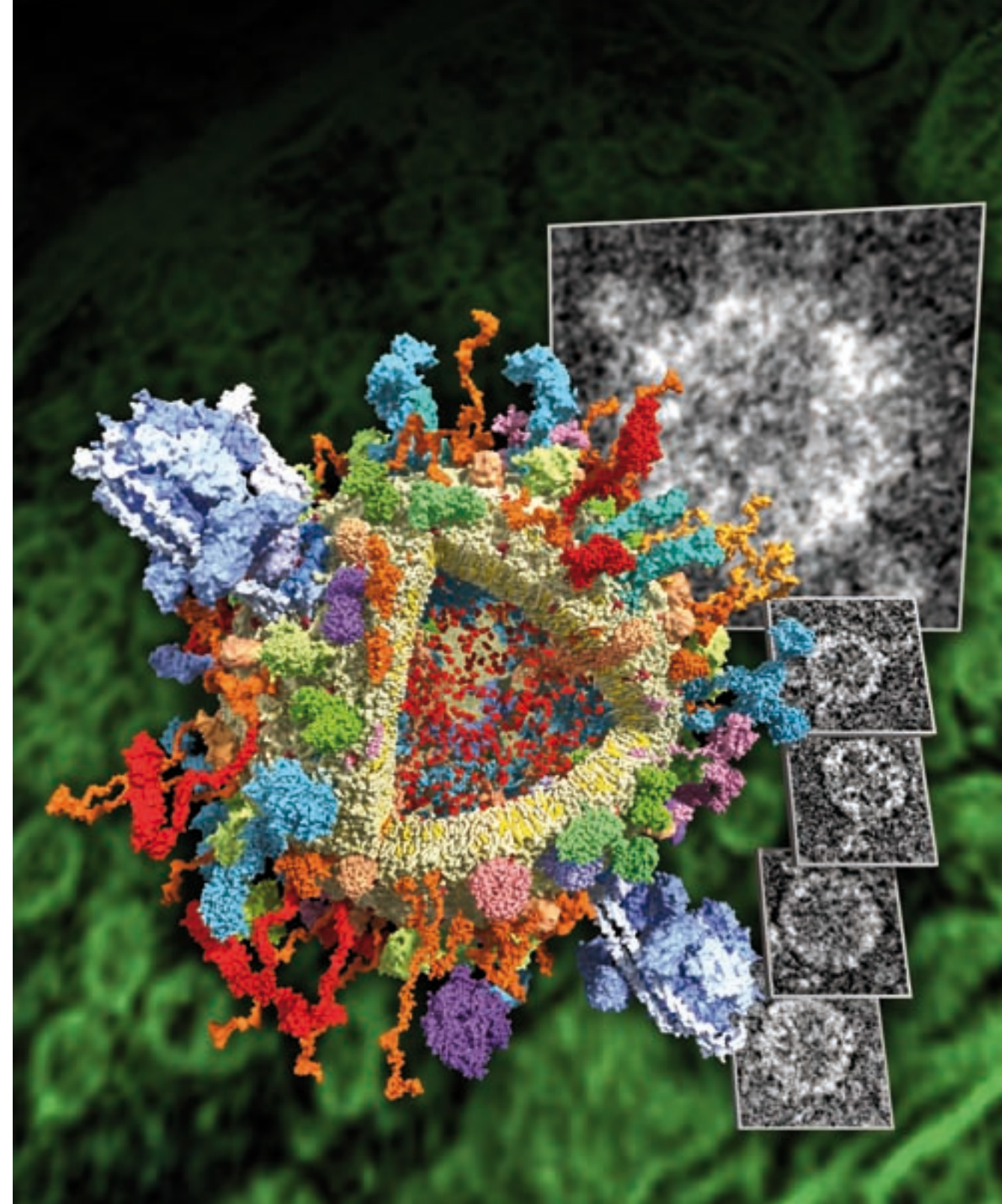
(een zuurstofbindend eiwit verwant aan hemoglobine dat in spieren voorkomt, AS). Dankzij MD-simulatie begrijpen we waarom aquaporine een zo efficiënt waterfilter is en waarom protonen, die toch veel kleiner zijn dan watermoleculen, dat filter niet kunnen passeren. Dat heeft te maken met de elektrostatische barrière die de aminozuren rond de kanalen in het eiwit vormen. Ook bij de bestudering van ionenkanalen in de wand van zenuwcellen, die het ons mogelijk maken te denken, heeft MD een grote bijdrage geleverd. Bacteriële fotosynthese, de werking van het 'zichteiwit' rhodopsine dat in ons netvlies zit, het zijn allemaal deelgebieden waar MD een grote en in mijn visie zelfs een doorslaggevende bijdrage heeft geleverd aan het ontrafelen van de werking ervan. En hoewel we nog ver staan van het oplossen van het eiwitvouwprobleem ben ik ervan overtuigd dat we op den duur met vrij grote nauwkeurigheid en betrouwbaarheid kunnen voorspellen hoe eiwitten vouwen.'

Volgens Grubmüller heeft Vijay Pande aan de Amerikaanse Stanford University met een klein eiwit al aangetoond dat eiwitvouwsimulatie zou kunnen werken. In Groningen hebben De Vries en de zijnen laten zien hoe zogeheten vesicles van lipiden samensmelten. Die blaasjes spelen een belangrijke rol in het vervoer van moleculen in de cel, maar ook bij de overdracht van signalen tussen hersencellen.

De Vries vult aan: 'Als je in biochemie-leerboeken kijkt, dan zie je dat in de loop der tijden het beeld van het membraan sterk veranderd is. Dat komt door simulaties.'

Dan is dus het wachten op de dag dat in silico, de computer, het overneemt van in vitro, de reageerbuis? De Vries gelooft daar niet in. 'Want om het goed te doen moet je een voldoende lange tijd kunnen simuleren. Tijdsduur is een van de grote problemen bij

Het natte lab van de reageerbuis blijft onmisbaar



Model van een synaptisch blaasje (vesicle) dat een centrale rol speelt bij de signaaloverdracht tussen zenuwen. De tekening laat het opengesneden beige blaasje zien, met daarin de neurotransmittermoleculen (rood) en aan de blaasjeswand gekoppelde eiwitten (verschillende kleuren). De grote zwart-wit afbeelding op de achtergrond toont een op basis van het model berekende microscoopopname, de vier kleinere zijn echte opnamen.

de krachtvelden lopen wel steeds minder uiteen, maar het is nog steeds zo dat je een andere uitkomst op eenzelfde vraag kunt krijgen als je andere getallen uit de literatuur gebruikt. Het eerder aangehaalde eiwitvouwprobleem zou eigenlijk wel eens onoplosbaar kunnen blijken, omdat de krachten niet nauwkeurig genoeg te bepalen zijn. Ook met kwantummechanica zal dat niet lukken omdat die berekeningen te onnauwkeurig zijn. Ik heb nog geen helder beeld of we dat probleem ooit overwinnen of dat de oplossing misschien zelfs verder verwijderd raakt.'

Het is dus niet louter groter en sneller maar ook anders. Ook om protonoverdrachtsreacties te kunnen simuleren zal nog meer op de kwantummechanica geleund moeten worden, hetgeen meer rekenkracht vergt. Polariseerbaarheid en andere parameters zullen moeten worden meegenomen. Maar, zoals Grubmüller ook al aangeeft, krachtiger en sneller is niet het enige ingrediënt van de oplossing van de rekenproblemen in de MD. Gebrek aan nauwkeurige gegevens is een probleem, maar ook de onmogelijkheid van de huidige computers om alles tot in de kleinste decimaal uit te kunnen rekenen, zoals de illustere wiskundige Gödel aangaf in zijn onbeslisbaarheid- en onvolledigheidstheorema.

Er is nog wel wat werk aan de winkel in MD-land alvorens we ooit de mens in beeld krijgen. ●

het realistisch na bootsen van de processen in de cel.'

Grubmüller valt De Vries daarin bij: 'Het lab blijft voor mij essentieel voor het doorgronden van biologische processen. Ik denk dat het een fraai samenspel tussen het natte lab en de computersimulatie wordt om er achter te komen hoe die moleculaire wielen en raderen werken die twee miljard jaar geleden zijn ontstaan. Beide methoden met hun eigen aanpak.' Hoewel Grubmüller meent dat het vouwprobleem bij eiwitten met computer-MD te doorgronden valt, houdt hij toch een slag om de arm.

Prof.dr. Wilfred van Gunsteren schreef in een artikel uit 2006 in *Angewandte Chemie*

dat hij verwachtte dat in 2057 de hele mens moleculair dynamisch zou zijn door te rekenen, te simuleren. Grubmüller: 'Dat moet een grapje zijn. Voor het zover is zal er veel moeten veranderen. Onze huidige modelleertechnieken zijn gebaseerd op krachtvelden uit de klassieke mechanica. Daarmee kunnen we geen chemische reacties bestuderen. Daarvoor heb je zogeheten QM/MM-simulaties nodig, een mengvorm van een klassieke en een kwantummechanische benadering. Dat is geen ernstig probleem, maar het vergt meer rekenkracht.'

'Daarnaast zijn onze parameters lang niet nauwkeurig genoeg om betrouwbare voorspellingen te kunnen doen. De getallen voor