

Рентгеновские лазеры и перспективы развития динамической структурной биологии *

Шайтан К.В., Кирпичников М.П., Ламзин В.С., Ильин В.А., Егоров А.М., Молодцов С.Л., Рычев М.В.

Кратко обсуждаются возможности использования рентгеновского лазера XFEL для решения задач современной структурной биологии. Результаты подготовительных работ участников международного проекта ХВІ были представлены в рамках международного симпозиума и намечен план дальнейшего сотрудничества.

Ключевые слова: рентгеновские лазеры на свободных электронах, структурная динамика белков, мембранные белки, структура белковых комплексов.

* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-04-92425-EMBL-a).

21 марта 2013 г. в рамках Международного симпозиума по научно-техническому сотрудничеству РФФИ-EMBL в области молекулярной биологии, проходившего под эгидой VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» состоялось заседание секции «Новые технологии в использовании лазеров для изучения биологических объектов (проект ХВІ)». На заседании выступили с докладами представители Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL), Научно-исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ КИ), Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (МГУ), Института биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН) и Института химической физики имени Н.Н. Семенова (ИХФ РАН). Эти организации, совместно с рядом других европейских лабораторий, объединены в консорциум ХВІ по созданию лаборатории структурной биологии,

который поддержан по итогам конкурса, проводившемся в 2012 г. XFEL (Гамбург), где в настоящее время создается рентгеновский лазер на свободных электронах с уникальными параметрами пучка, позволяющими проводить структурными и динамические исследования бимакромолекул, их комплексов, клеточных и субклеточных структур.

Использование рентгеновских лазеров открывает новую эру в структурной биологии и очень гармонично вписывается в перспективное развитие постгеномных технологий.

Уровень развития современной биологии, биомедицины, фармакологии требует знаний о механизмах биологических процессов в норме и патологии с атомной точностью. В настоящее время в базах данных содержится информация только о порядке 90 тысяч из миллионов белковых структур. Эта информация в подавляющем большинстве случаев получена методами рентгено-



ШАЙТАН

Константин Вольдемарович

доктор физико-математических наук, профессор Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.



КИРПИЧНИКОВ

Михаил Петрович

академик РАН, декан биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова



ЛАМЗИН

Виктор Станиславович

кандидат химических наук, заместитель директора и заведующий лабораторией отделения EMBL в Гамбурге, Германия.



ИЛЬИН

Вячеслав Анатольевич

доктор физико-математических наук, начальник отделения НИЦ «Курчатовский институт».



ЕГОРОВ

Алексей Михайлович

академик РАН, заведующий лабораторией инженерной энзимологии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.



МОЛОДЦОВ

Сергей Львович

доктор физико-математических наук, научный директор Европейского рентгеновского лазера на свободных электронах (XFEL).



РЫЧЕВ

Михаил Викторович

кандидат физико-математических наук, заместитель директора НИЦ «Курчатовский институт».

структурного анализа и относится к кристаллическим структурам белков в некоторых локально равновесных конформациях. К сожалению, огромное число белковых структур, особенно сложных белковых комплексов, практически не поддаются кристаллизации или получаемые для них кристаллы имеют нанометровые размеры и сильные дефекты, что осложняет использование классического рентгено-структурного анализа (РСА). Кроме того, классический РСА практически неприменим для изучения структуры и динамики биомолекул в переходных, функционально активных состояниях.

Использование рентгеновских лазеров на свободных электронах (XFEL) дает принципиально новые возможности как для структурного анализа биологических объектов, так и изучения их функциональной структурной динамики. Сочетание огромной яркости вспышки свыше 10^{23} Вт/см² (сфокусированную на область 100 нм²) и короткой длительности порядка 10 фс приводит к совершенно уникальным принципиальным возможностям этого инструмента. С одной стороны, при такой мощности излучения возникающие напряженности электрического поля на молекуле таковы, что достаточно быстро приводят к ее глубокой ионизации и, в последующем, кулоновскому взрыву. Однако до этого момента успевает накопиться двумерная картина рассеяния рентгеновских квантов, которая дает представление о распределении электронной плотности в молекуле. По этой картине рассеяния возможно восстановление проекции атомной структуры.

То есть, синхронизируя вспышки рентгеновского лазера и вброс биомолекул или их комплексов в пучок с определенной задержкой после перевода макромолекул в функционально активное состояние имеется принципиальная возможность получить для функционального акта «молекулярное кино». В нас-

тоящее время такое молекулярное кино может быть предсказано только методами молекулярного моделирования с использованием суперкомпьютерных технологий. Однако и в этом случае требуется знание начальной пространственной структуры биомолекулярного комплекса и всех параметров межатомных силовых взаимодействий с высокой точностью. Хотя современными методами для целого ряда систем такие задачи решаются, но появление непосредственных и прямых экспериментальных результатов в этой области будет иметь последствия для биологии и биомедицины, которые трудно переоценить.

Вместе с тем, следует иметь в виду, что анализ картины рассеяния мощного лазерного рентгеновского излучения на единичных (некристаллических или сильно дефектных) образцах и решение для них обратной задачи рассеяния ставит ряд весьма нетривиальных физических, математических и вычислительных проблем. Эффект суммарного рассеяния квантов на всех атомах макромолекулы, ограниченность статистики по числу фотонов от рассеяния на единичном образце, проблемы с неопределенной ориентацией и конформацией частицы во время эксперимента, существенный вклад в картину рассеяния неупругих процессов делает решение обратной задачи рассеяния одной из самых трудных и амбициозных для современной структурной биологии. В качестве приза при решении этой задачи мы получим качественный скачок в наших знаниях о структуре и функциональной динамике биообъектов.

В последнее время в России и Европе интенсивно проводятся исследования и разработки в области математического и компьютерного обеспечения работ в этом направлении с ориентировкой на возможности рентгеновского лазера в Гамбурге, который вступит в строй по плану в 2017 г. Эти работы ведутся, в частности, в гамбургском отделении EMBL и в России (МГУ, НИЦ «Курчатовский институт», ИБХ РАН и ИХФ РАН). Сделанные на секции доклады по данной проблеме от всех вышеперечисленных участников разработки показали хорошую координацию и взаимную дополняемость проводимых исследований. Проведенные дискуссии и обсуждения докладов дают основания считать, что к настоящему моменту сформировалась работоспособная международная команда исследователей, активно работающих над основными аспектами проблемы обработки информации, получаемой при рассеянии излучения рентгеновского лазера биообъектами. Это в настоящее время является одним из важнейших этапов подготовки к планируемым экспериментам на рентгеновском лазере. Отметим также, что в НИЦ «Курчатовский институт» начаты работы по подготовке

вычислительной инфраструктуры для обработки и хранения данных экспериментов с XFEL на Курчатовском суперкомпьютере. Системы хранения и обработки после завершения проекта позволят аккумулировать все необходимые данные и результаты экспериментов, проводимых российской стороной.

Основные работы на данный момент сфокусированы на решении следующих проблем:

- Разработка методов быстрого детектирования и классификации изображений, содержащих дифракционную картину, получаемых при дифракции рентгеновского лазерного излучения на макромолекулах, создание средств компьютерного моделирования неупругих эффектов из первых принципов (НИЦ «Курчатовский институт»).
- Изучение и моделирование неупругих эффектов (включая нестационарные факторы) при рассеянии интенсивного рентгеновского излучения макромолекулами и влияние конформационных движений на дифракцию рентгеновского лазерного импульса на нанокристаллах (ИХФ РАН).
- Изучение роли мембранных компонент при дифракции на белок-мембранных комплексах (ИБХ РАН и Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова (СВФУ)).
- Разработка компьютерных методов восстановления пространственной структуры белков путем анализа карт электронной плотности низкого разрешения, получаемых при рассеянии рентгеновского лазерного излучения на единичных белковых структурах с использованием биоинформационных баз данных, методов молекулярного моделирования, анализа 3D изображений (МГУ, биологический факультет).
- Разработка новых подходов для восстановления изображений сложных объектов, включая точные структуры по дифракции рентгеновского лазерного излучения (EMBL).

Один из докладов, представленных совместно МГУ и ИХФ РАН, был также посвящен разработке пилотного проекта по демонстрации возможностей XFEL при изучении функциональной динамики белков. Удобной системой для этого являются первичные стадии фотоиндуцированных превращений в

зрительных белках. Реакция фотоизомеризации ретиналя в родопсине является одной из самых быстрых в природе. Элементарный химический акт фотоизомеризации протекает за время порядка 80 фс. Следует отметить, что скорость фотоизомеризации свободного ретиналя в растворе на два порядка медленнее. Выяснение молекулярного механизма протекания фотоиндуцированных структурных перестроек ретиналя в белковой матрице является актуальной задачей как с фундаментальной точки зрения, т.е. выяснения фундаментальных основ зрительного восприятия, так и в прикладном аспекте. Сегодня ретинальсодержащие белки – родопсин и бактериородопсин – рассматриваются в качестве прообразов фотоуправляемого сверхскоростного молекулярного переключателя.

Заглядывая несколько вперед, следует обратить внимание и на другие крайне интересные с точки зрения современной биомедицины объекты исследований. Речь идет прежде всего о достаточно широком спектре мембранных белков и рецепторов, играющих важнейшую роль в регуляции физиологических функций клетки. Это и ионные каналы, различные GPCR рецепторы и их комплексы с другими белками и лигандами. Все эти объекты весьма трудно кристаллизуются или, в большинстве случаев, вообще не кристаллизуются. Однако их структурные изменения при функционировании являются ключом к пониманию и управлению их функциями. Именно поэтому с применением рентгеновских лазеров на свободных электронах в структурной биологии можно ожидать качественно новых результатов.

