**Теоретическая биофизика**

А.Б.Рубин, О.Р.Кольс, Т.Е.Кренделева и др.

Теоретическая биофизика изучает общие проблемы организации и регуляции живых систем разного уровня организации на основе законов квантовой механики, кинетики и термодинамики. Основным методом теоретической биофизики является математическое и компьютерное моделирование, которое все чаще становится инструментом исследования как общих закономерностей, так и особенностей организации конкретных живых систем всех уровней, начиная от биомакромолекул и их взаимодействий, и кончая экологическими системами и биосферой в целом.

Универсальной элементарной ячейкой живой материи является биологическая клетка, в которой сконцентрированы все необходимые атрибуты феномена жизни. Одним из основополагающих структурно-функциональных элементов живой клетки является мембрана, которая отделяет ее от внешнего мира. Мембрана представляет собой бислойную липидную оболочку, в которою встроены различные белковые молекулы и целые макромолекулярные агрегаты. На поверхности мембраны протекают разнообразные биохимические реакции, необходимые для поддержания жизнедеятельности клетки.

Фундаментальной особенностью живой клетки является то, что она представляет собой совершенную биоэнергетическую машину. Растительные и некоторые бактериальные клетки осуществляют процесс превращения световой энергии в электрическую — фотосинтез. Такие клетки можно назвать биологическими электростанциями, генерирующими энергоемкое соединение — аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ), которая является универсальным биологическим топливом. Создание трансмембранной разности потенциалов сопряжено с процессом разделения зарядов, т.е. с переносом электронов и протонов через мембрану. Перенос зарядов осуществляется не только в ходе фотосинтеза и дыхания; в той или иной степени процесс переноса зарядов, главным образом электронов и протонов, представлен во многих биохимических реакциях. Изучение физических механизмов, благодаря которым осуществляется перенос зарядов в макромолекулярных биологических системах, представляет актуальную задачу современной биофизики.

Глубокое понимание молекулярных механизмов различных биологических процессов невозможно без широкого использования фундаментальных представлений современной физики, в том числе квантовой механики. Например, основу механизма элементарного акта переноса электрона в биологических структурах представляет туннельный эффект — чисто квантовое явление, не имеющее аналога в классической, т.е. не квантовой, механике. Суть его состоит в том, что в квантовом мире вероятность того, что электрон преодолеет энергетический барьер, не равна нулю, даже если его энергия меньше высоты этого барьера. Описание физических свойств и динамики биологических молекул представляет собой весьма трудную. В этой связи в практику описания биологических систем и процессов все более широко внедряются современных компьютерные методы численного моделирования. При описании молекулярных процессов необходимо учитывать многие факторы, определяющие эффективность биологических процессов. К таким факторам в первую очередь относится внутримолекулярная конформационная динамика взаимодействующих молекул. Например, скорость и эффективность переноса электрона при первичном разделении зарядов в фотосинтезе существенно зависит от конформационной динамики молекул переносчиков. Для компьютерного моделирования молекулярных процессов используются различные методы квантовой механики, квантовой химии и молекулярной динамики. В настоящее время эти методы являются основными инструментами теоретического изучения сложных молекулярных процессов.

Одним из наиболее важных структурных факторов, определяющих строение и конформационную динамику биологических макромолекул, являются водородные связи (особый тип химической связи). Изучение роли водородных связей в конкретных биологических процессах представляет актуальную задачу, в решении которой также помогают методы компьютерного моделирования. С помощью этих методов можно исследовать динамические свойства молекулярных систем, которые недоступны прямому наблюдению.

Молекулярные структуры с сильно развитой системой водородных связей — сеткой водородных связей — обладают способностью проводить электрический ток, причем носителем заряда является протон — ядро атома водорода. Перенос протона осуществляется по так называемому эстафетному механизму. В мембранах существуют специальные каналы, которые переносят протоны с одной стороны мембраны на другую, т.е. осуществляют протонный транспорт. Такой канал представляет собой специальную пору, в которой находится вытянутая цепочка молекул воды, связанных друг с другом водородными связями. Перенос протона через мембрану происходит таким образом, что один протон присоединяется к этой водной цепочке, например, со стороны цитоплазмы и инициирует сдвиг протонов в водородных связях этой цепочки. В результате этого с внешней поверхности мембраны от водной цепочки отщепляется протон, который находился на внешнем конце этой цепочки. Таким образом, перенос протона на расстояние, равное толщине мембраны, происходит в результате поэтапного смещения отдельных протонов на существенно меньшие (примерно в 200 раз) расстояния.

При изучении конкретных молекулярных процессов, протекающих в биосистемах, необходимо принимать во внимание все возможные факторы и взаимодействия, так как в молекулярных системах (впрочем, как и в нашей жизни) «все влияет на все». Рассмотрим, например, такой фактор, как температура среды. Всем известно, что температура человеческого организма должна быть порядка 36 — 37°С. Возникает вопрос, какими особенностями биологических структур определяется такое значение температуры? Что происходит при нарушении нормального функционирования организма из-за увеличения или понижения внутренней температуры тела человека? Этот вопрос относится и к любым другим живым системам, хотя температурный диапазон может немного варьировать.

Изучение температурной зависимости эффективности электронного переноса в конкретных молекулярных процессах позволяет находить ответы или делать те или иные предположения о механизмах влияния температуры на свойства белковых молекул. В этом случае процесс электронного транспорта является зондирующим процессом, с помощью которого тестируются гипотезы о возможных изменениях в конформационном состоянии молекул, участвующих в электрон-транспортном процессе. Использование процесса электронного транспорта в качестве инструмента для изучения микро- и макроконформационных состояний макромолекул, а также тех релаксационных процессов, которые ответственны за структурную перестройку молекулярной системы, является весьма эффективным. Особое значение приобретают методы компьютерного моделирования, с помощью которых можно рассчитывать конфигурации молекул, соответствующие минимуму энергии системы, т.е. такие конфигурации, которые в реальных структурах реализуются с наибольшей вероятностью.

Теоретические работы кафедры направлены на решение вопроса о том, каким образом свойства элементов системы и механизмы их взаимодействия определяют поведение целостной системы. Это — классический научный подход системного анализа и математического моделирования. Биологические системы — сложные многоуровневые системы, протекающие в них процессы имеют сложную пространственно-временную иерархию. Для того, чтобы понять, как компоненты системы нижнего (например, молекулярного) уровня и их взаимодействия определяют процессы на верхнем (например, клеточном) уровне, полезно строить математические или компьютерные модели, которые формализуют и интегрируют наши представления о компонентах системы и их взаимодействиях.

Качественное (а иногда и количественное) представление о ходе процессов во времени и пространстве можно получить с помощью кинетических моделей, которые представляют собой системы дифференциальных уравнений, описывающих процессы во времени и пространстве.

Динамику биомакромолекул, изменение их пространственной структуры и локальные электрические взаимодействия невозможно описать только с помощью традиционных дифференциальных уравнений. Здесь используются имитационные подходы, которые мы называем прямым многочастичным моделированием. Этот тип моделирования стал возможным недавно в связи с развитием компьютерной техники. Мы начали его использовать для описания наиболее хорошо изученных процессов в биомембранах. Он также применим и для описания других процессов в живой клетке, лишь бы мы располагали достаточными сведениями о свойствах отдельных элементов системы и их взаимодействиях. Сюда относятся как структурные данные о биомолекулах, мембранах и других субклеточных наноструктурах, так и физические законы их взаимодействия. Постановка задачи моделирования, формулировка модели и идентификация параметров — предмет совместной работы специалистов в области биологии, физики, математики, программирования и собственно моделирования. В настоящее время на кафедре ведутся работы по кинетическому и компьютерному моделированию процессов в растительной клетке на молекулярном, субклеточном и клеточном уровне.

Кинетические модели процессов в фотосинтетической мембране описывают с помощью дифференциальных уравнений процессы переноса электрона и трансмембранного переноса ионов. Модели отражают представления о механизмах процессов и о скоростях отдельных реакций, описывают кинетику окислительно- восстановительных превращений компонентов электрон- транспортной цепи (ЭТЦ). Результаты численных экспериментов численно воспроизводят кривые индукции флуоресценции и кинетику электрического потенциала, наблюдаемые в эксперименте на суспензиях хлоропластов и клеток водорослей, а также на листьях зеленых растений. Анализ экспериментальных кривых для разных условий в эксперименте и в природе позволяет сделать выводы о том, как меняются внутренние параметры фотосинтетического аппарата при изменении светового режима, при серном и азотном голодании, голодании, в присутствии токсичных агентов.

Мы разрабатываем также модели, описывающие связь фотосинтетического электронного транспорта с метаболическими процессами в растительной клетке. Моделирование влияния различных регулирующих факторов позволяет установить, к каким изменениям фотосинтетического аппарата приводят изменения внешней среды (голодание, тепловой шок, ингибиторы). Целью такого рассмотрения является создание своеобразного «определителя», позволяющего оценить места регуляции системы первичных процессов, затронутые тем или иным воздействием.

Прямые многочастичные модели взаимодействия белков призваны ответить на вопрос, как характеристики отдельных молекул (структура, форма, распределение локальных зарядов) и молекулярных комплексов, взаимодействуя в ансамбле in vitro или в сложном интерьере клетки, проявляются в виде «макропоказателей», которые мы регистрируем биохимическими или спектральными методами. Речь идет в первую очередь о кинетике процесса — то есть об изменении концентраций взаимодействующих молекул.

С использованием баз данных по белкам строятся модели, учитывающие пространственную структуру белков и их электрические заряды (эквипотенциальные поверхности). На компьютере имитируется броуновское движение нескольких сотен молекул белков в растворе, изучается процесс докинга — образования комплекса двух белков, предшествующее акту реакции (например, при окислительно-восстановительной реакции — переносу электрона с реакционного центра одной молекулы на реакционный центр другой). В отличие от молекулярной динамики, где моделируется отдельная молекула или молекулярный комплекс, в прямых многочастичных моделях мы рассматриваем ансамбли взаимодействующих молекул. На вероятность их взаимодействия влияет не только структура и форма молекул, их локальные заряды, но и свойства (например, вязкость) среды, геометрия объема, в котором происходит взаимодействие.

Изучаются детали электростатического взаимодействия отдельных белков-переносчиков. Белки представлены в виде твердых тел с пространственно фиксированными зарядами. Поступательное и вращательное движение белков являетя результатом взаимодействия броуновских и электростатических сил. Для пространственного описания электростатического потенциала, генерируемого вокруг белков, используется формализм Пуассона-Больцмана. На основании представлений о механизмах единичного акта докинга и законах движения молекул модель позволяет понять, от каких биофизических величин зависит величина константы скорости реакции, которой мы привыкли оперировать в экспериментальных исследованиях и кинетических моделях. Знания о деталях взаимодействия отдельных белков и их влиянии на общую скорость реакции важны для биомедицинских исследований, биоинженерии, биоэнергетики. Прямое моделирование фотосинтетичеких процессов позволяет выявить роль структурной организации в формировании кинетических сигналов, регистрируемых в биофизических экспериментах (флуорометрия, ЭПР и др.), и исследовать процессы в пространстве и времени на субклеточном уровне.