

Geburt und Zukunft der Multiskalenmodellierung von makromolekularen Systemen (Nobel-Aufsatz)**

Michael Levitt*

Coarse-grained-Modelle ·

QM/MM-Hybridmodelle · Molekulare potentielle Energie · Nobel-Aufsatz · Proteindynamik in Wasser

Einleitung

Den Nobelpreis zu gewinnen ist eine einzigartige und wundervolle Erfahrung, auf die man sich nicht vorbereiten kann oder bei der man in irgendeiner Art wissen kann, was einen erwartet. Die augenblickliche Verwandlung von einem gewöhnlichen Menschen, der hart daran arbeitet, die vor uns liegenden Probleme zu lösen, in ein Symbol, eine Berühmtheit, ist ein erstaunliches Phänomen. Einerseits ist ein reifer Mensch wahrscheinlich recht zufrieden mit seinem Leben bis zum Moment der Verwandlung und strebt daher danach, so weiter zu leben wie zuvor. Andererseits weiß jeder Wissenschaftler, wie wichtig Vorbilder für seine gesamte Karriere waren, und möchte in dieser Tradition selbst ein Vorbild für künftige Generationen sein. Dies ist ein Dilemma, das mich jetzt beschäftigt und für dessen Lösung ich wahrscheinlich Jahrzehnte benötigen werde.

Der Nobel-Vortrag unterscheidet sich von anderen Vorträgen, weil er zum einen Vergangenheit, Gegenwart und Zukunft vereint und zum anderen vor einem breiten Publikum gehalten wird, das vom interessierten Schulkind bis zum kompetenten Kollegen reicht. Beim Niederschreiben eines solchen Vortrags passiert es leicht, dass man sich an der jahrhundertealten Tradition des Schreibens wissenschaftlicher Veröffentlichungen orientiert, denen die Lebendigkeit eines Vortrags abgelenkt kann. Mit dieser Herausforderung konfrontiert, habe ich beschlossen, diese schriftliche Fassung eng an meinem Vortrag zu orientieren und die Folien als Abbildungen zu verwenden. Der Haupttext gibt eine einfache Beschreibung, während die Bildunterschriften tiefergehende Kommentare und Diskussionen ermöglichen.

Auf den Schultern von Giganten

Eine offensichtliche Voraussetzung für bahnbrechende Arbeit, die Jahrzehnte später Früchte trägt, — nobelpreiswürdige Forschung — ist, auf hohem Niveau anzufangen und auf die Schultern von Giganten zu steigen, um so weit wie möglich in die Zukunft zu schauen. In meinem Fall hatten diese Giganten einen neuen Weg entdeckt, über die Biologie nachzudenken, einen Weg, der sich für computergestützte Multiskalenmodellierungen anbot.

Bei Francis Crick (Abbildung 1) war es einfach, ihn als brillanten Wissenschaftler mit einer Leidenschaft für die

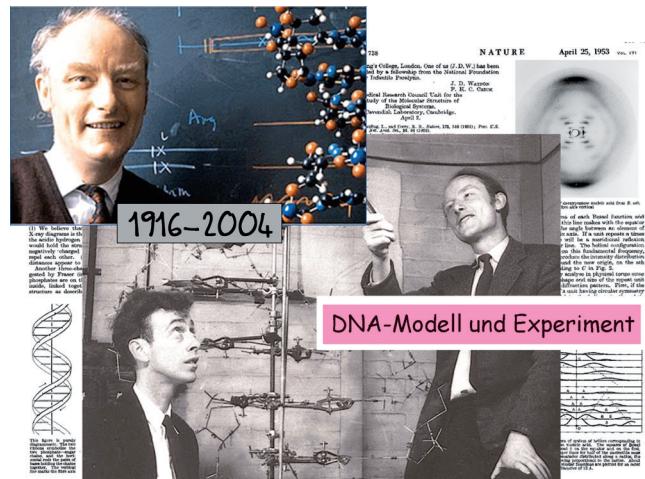


Abbildung 1. Francis H. C. Crick ist wohl einer der zwei oder drei bekanntesten Wissenschaftler des 20. Jahrhunderts, einer Zeit, in der es eine Überfülle an Geistesgrößen gegeben hat, die das menschliche Denken verändert haben. Seine Beiträge zu unserer Geschichte sind zahlreich und vielseitig. Ich traf Crick 1968 im Alter von 21 Jahren und arbeitete in den folgenden zehn Jahren eng mit ihm zusammen. Er lehrte mich, sorgfältig nachzudenken, indem ich einfache Fragen stellte und dann versuchte, sie zu beantworten. Zusammen mit James Watson nutzte Crick Molekülsimulationen, um eine Vielzahl an Daten zu einem dreidimensionalen Modell der DNA zu vereinen. Dieses erwies sich als hinreichend korrekt und konnte erklären, warum genetische Information fehlerfrei kopiert wird. Ihre Fähigkeit, Informationsbruchstücke aus mehreren Quellen zu verknüpfen, um eine korrekte Antwort zu erhalten, wirkte magisch.^[1,2] Diesem Vorbild versuchten alle nichtexperimentellen theoretischen Strukturbiologen in den nächsten sechzig Jahren zu folgen.

* Prof. M. Levitt

Stanford University School of Medicine
Department of Structural Biology
299 West Campus Drive, Stanford, CA 94305 (USA)
E-Mail: michael.levitt@stanford.edu

** Copyright © The Nobel Foundation 2013. Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Abdruck einer deutschen Fassung dieses Vortrags.

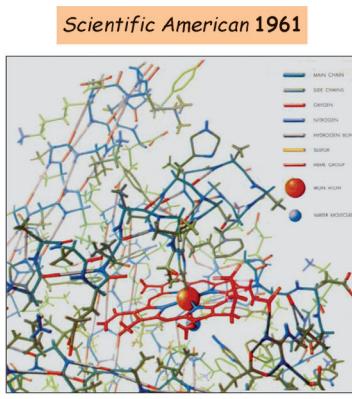
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201403691> zu finden.

Forschung und das Leben im Allgemeinen zu schätzen. Meine frühesten Erinnerungen an unsere Treffen sind, dass ich davon beeindruckt war, dass er einen ausgefallenen Sportwagen, einen gelben Lotus Elan, besaß. Was mich dabei am meisten überraschte, war, wie mich dies als 21 Jahre alten Jungen dazu befähigte, eine Beziehung zu dem offensichtlichen Jungen in ihm aufzubauen.

Einige Jahre nachdem Crick und Watson die Struktur der DNA gelöst hatten, bestimmte John Kendrew (Abbildung 2)



1917–1997



erste röntgenographisch ermittelte Proteinstruktur

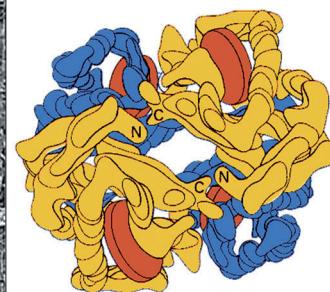
Abbildung 2. John C. Kendrew nutzte die Röntgenkristallographie, um die dreidimensionale Struktur des Proteins Myoglobin aufzuklären.^[3] Die Strukturdarstellung auf dem Umschlag von *Scientific American*^[4] stammt von dem Künstler Irving Geis, dem ein selbstgebasteltes Drahtmodell der Elektronendichte als Vorlage diente. Man sieht eine komplexe Struktur aus 153 Aminosäuren und über 2600 Atomen mit einer klaren dreidimensionalen Form, die durch Kräfte zwischen den Atomen bestimmt zu sein schien. Diese Form schien zu erklären, wie die Häm-Gruppe (in Rot) in Walmuskeln Sauerstoff speichern kann, und schuf damit die Grundlage für die Molekularbiologie, nach der die molekulare Funktion in genau definierter Weise von der Struktur abhängt. Die Tatsache, dass die Biologie wie eine Uhr arbeitet, machte unsere Arbeit möglich.

die dreidimensionale Struktur eines Proteins, in diesem Fall aus Walmuskeln isoliertes Myoglobin, das damals schon einfach erhältlich war. Die Ansätze von Crick und Kendrew, die dreidimensionale Form von Biomolekülen zu bestimmen,

hätten nicht unterschiedlicher sein können. Kendrew ersetzte die brillante Inspiration von Crick und Watson durch eine gewissenhafte Methode, die auf jedes kristallisierbare Protein angewendet werden konnte. Die Methode war von Kendrews Doktorvater, Max Perutz (Abbildung 3), entwickelt worden,



1914–2002



der wahre Held der Strukturbioologie

Abbildung 3. Max F. Perutz ist zu sehen, wie er an seinem Messingdrahtmodell von Hämoglobin, das viermal größer als Myoglobin ist, arbeitet; die Struktur war viel schwieriger aufzuklären, da die Kristalle nicht ausreichend geordnet waren. Daher musste Max Perutz zu einer Zeit, als Kendrew wusste, wo jedes einzelne Atom in Myoglobin ist, mit dem rechts gezeigten Balsaholzmodell zufrieden sein, das die allgemeine Form der vier Globinketten wiedergibt.^[5] Doktoranden wie Crick und Kendrew halfen Perutz, das Gebiet der Strukturbioologie zu begründen. Er war ein wunderbarer Betreuer und ein warmherziger, intelligenter Mensch, der wusste, wie er das Beste aus allen, die mit ihm arbeiteten, herausholen konnte.

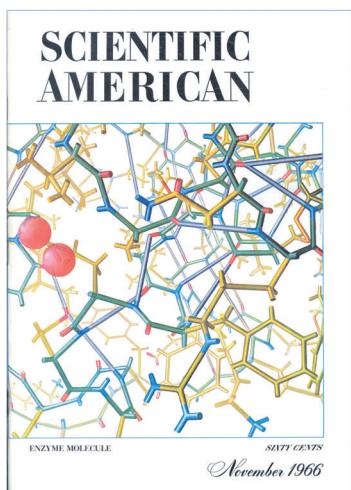
der auch Francis Crick betreut hatte und Leiter des Labors war, in dem sie alle zusammen arbeiteten. Diese als „Schweratomersatz“ bekannte Methode^[5] machte die kristallographische Proteinstrukturbestimmung möglich und allgemein anwendbar. Hierfür teilte sich Perutz 1962 den Nobelpreis für Chemie mit Kendrew, und ihre Arbeit führte zu einem explosiven Anstieg von dreidimensionalen Proteinstrukturen, von einer einzigen Struktur 1959 zu fast einhunderttausend Strukturen heute, 55 Jahre später.

Auch der Biophysiker David Phillips aus Oxford beeinflusste meine Karriere. Er löste 1966 die erste Struktur eines Enzyms, des Proteins Lysozym, und publizierte sie in *Scientific American*, einer verbreiteten und wegen ihrer Farbabbildungen sehr beliebten Zeitschrift (Abbildung 4). Lysozym ist ein Enzym, das die Spaltung von Zuckerketten, die Bakterien schützen, katalysiert. Zusammen mit Myoglobin bildete es die Grundlage für die Weiterentwicklung der computergestützten Strukturbioologie (siehe unten).

Ein weiterer Gigant jener Zeit, auf dessen Schultern wir standen und immer noch stehen, ist Linus Pauling, der 1951 die Strukturen von α -Helix und β -Faltblatt, den zwei wesentlichen, in vielen Proteinstrukturen wiederverwendeten Bausteinen, korrekt vorhersagte. Ich lernte Pauling erst viel später kennen, aber 1990 hatte ich das Vergnügen und die Ehre, ihm über die Simulation einer α -Helix in Wasser vor-



Michael Levitt wurde 1947 in Pretoria geboren. Er studierte Physik am King's College in London und promovierte am MRC Laboratory of Molecular Biology und an der Cambridge University in Biophysik. Nach Aufenthalten am Weizmann-Institut, am MRC Laboratory of Molecular Biology und am Salk Institute wurde er 1987 Professor für Strukturbioologie am Department of Structural Biology der Stanford University School of Medicine. Heute ist er „Robert W. and Vivian K. Cahill Professor of Cancer Research“. Zu den Auszeichnungen, die er vor der Verleihung des Nobelpreises erhalten hat, gehört der Jahrespreis der Federation of European Biochemical Societies sowie die Wahl als Fellow der Royal Society und als Mitglied der US National Academy of Science.



1924–1999

ein früher Unterstützer
der computergestützten
Biologie

Abbildung 4. David C. Phillips nutzte die Röntgenkristallographie, um die dreidimensionale Struktur des Enzyms Lysozym aufzuklären.^[7] Diese Struktur ermöglichte es ihm, das Substrat im aktiven Zentrum des Enzyms zu modellieren und über die Art der enzymatischen Aktivität Vermutungen anzustellen. Er schlug vor, dass der sechsgliedrige Zuckerring durch sterische Wechselwirkungen mit dem aktiven Zentrum verzerrt wird.^[8] Das war falsch, aber es führte mich, zusammen mit Arieh Warshel, zur Entwicklung von Hybridmodellen aus Quantenmechanik (QM) und klassischer Mechanik (MM), mit denen sich zeigen ließ, dass die Verzerrung elektrostatisch und nicht sterisch bedingt ist.

tragen und einen Film zeigen zu dürfen, in dem die Zersetzung der α -Helix bei hohen Temperaturen zu sehen war.

Die Geburt der computergestützten Strukturbioologie

1967 existierten zwei scheinbar unterschiedliche, reißende Strömungen an wissenschaftlichen Entdeckungen und technischem Fortschritt. Wissenschaftliche Forschung hatte die Strukturen von Myoglobin (Abbildung 2) und Lysozym (Abbildung 4) im Kristall aufgeklärt und damit gezeigt, dass die Moleküle, die für die Hauptfunktionen eines Lebewesens zuständig sind, unglaublich komplizierte Strukturen haben. Das ist nicht Zierde oder Zufall, sondern essenziell für die Ausführung der lebenswichtigen biologischen Funktionen. Technische Fortschritte hatten gezeigt, dass Computer flexibel programmiert werden können, um alle möglichen Berechnungen durchzuführen. Diese Maschinen wurden gerade zu Handelsprodukten, und die Entwicklungen schritten schnell voran. Die computergestützte Strukturbioologie war geboren, als sich diese beiden Strömungen zu einem riesigen und mächtigen Strom vereinten, der 50 Jahre später noch immer das Feld vorantreibt.

Wie viele interessante Ereignisse in der Geschichte geschah dies durch das seltene Aufeinandertreffen von drei Individuen mit sehr verschiedenen Talenten, Hintergründen und Ansätzen. Noch beachtlicher ist, dass ein weiteres Individuum für das Aufeinandertreffen verantwortlich war und es genau geplant hatte. Alles begann mit einer philosophischen Überlegung zur Natur des Modells, mit dem Moleküle re-

konsistentes Kraftfeld 1968

Weizmann-Institut 1967–1968



Michael Levitt



Shneior Lifson



Arieh Warshel

THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS VOLUME 49, NUMBER 11 1 DECEMBER 1968

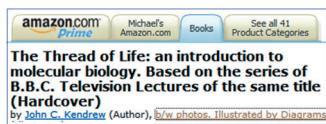
Consistent Force Field for Calculations of Conformations, Vibrational Spectra, and Enthalpies of Cycloalkane and *n*-Alkane Molecules

S. LIFSON AND A. WARSHEL
Department of Chemical Physics, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
(Received 13 May 1968)

Abbildung 5. 1967 bestand John Kendrew darauf, dass ich ein Jahr bei Shneior Lifson in Israel verbrachte, bevor ich meine Promotion in Cambridge beginnen durfte. Als ich im Oktober 1967 in Israel ankam, traf ich Shneior Lifson und seinen Doktoranden Arieh Warshel und begann eine Reise, die mich schließlich nach Stockholm führte. Der Schlüssel zu der Arbeit, die mir den Nobelpreis einbrachte, war Lifsons philosophisches Konzept, das als konsistentes Kraftfeld (Consistent Force Field) bekannt ist. Energieberechnungen an kleinen Molekülen dienten der Berechnung von Schwingungsspektren. In diesen Berechnungen waren Energieparameter enthalten, die die Kräfte zwischen den Atomen beschrieben, aber diese Kräfte waren nicht konsistent, da unterschiedliche Parameter für den gleichen Atomtyp, beispielsweise Kohlenstoff, in unterschiedlicher Umgebung verwendet wurden. Lifson wollte, dass es nur sehr wenige Atomtypen gab und dass die unterschiedlichen Energiersterne den Einfluss der Umgebung beschrieben. Mit Computerprogrammen, die ich geschrieben hatte, konnte Arieh Warshel einen konsistenten Satz an Parametern für eine Reihe kleiner organischer Kohlenwasserstoffe definieren, wie er 1968 in ihrer grundlegenden Arbeit veröffentlicht wurde.^[9]

präsentiert werden. Der Mann, der diese Überlegung anstelle, war Shneior Lifson, Professor für chemische Physik am Weizmann-Institut in Rehovot, Israel. Er argumentierte, dass die Energiefunktion und ihre erste Ableitung, das Kraftfeld, konsistent sein müssten. Dies habe zur Folge, dass es eine kleine Zahl an Atomtypen für jedes Element geben sollte und dass die Energieparameter unabhängig von der direkten Umgebung des Atoms sein sollten. Zum Beispiel könnte es zwei Arten von Kohlenstoff geben, aromatische und aliphatische, aber sobald diese Unterscheidung gemacht wurde, sollten die gleichen Parameter die Energie des Kohlenstoffatoms definieren. Diese Konsistenz bedeutet, dass es nur wenige Parameter gibt und diese von einer Situation zu einer anderen übertragbar sind.

Die Umsetzung dieser Idee war nicht einfach. Man musste zunächst diverse Eigenschaften kleiner Moleküle berechnen, einschließlich ihrer Geometrie, ihrer Spannungsenergie und ihrer Schwingungsfrequenzen, danach die berechneten Werte mit den entsprechenden gemessenen experimentellen Werten vergleichen und schließlich die Parameter verändern, um die beste Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Eigenschaften zu erreichen. Die Implementierung übernahm Arieh Warshel, Lifsons Doktorand, der auch die zu untersuchenden Systeme und zu bestimmenden Eigenschaf-



Nobelpreis 1962
TV-Sendereihe 1964
schickte mich 1967
nach Israel

The Thread of Life: An INTRODUCTION TO MOLECULAR BIOLOGY	
Episodes (BBC TV Winter 1964)	
The REVOLUTION IN BIOLOGY	(04/01/1964)
INSIDE THE CELL	(11/01/1964)
PROTEINS IN ONE DIMENSION	(18/01/1964)
PROTEINS IN THREE DIMENSIONS	(25/01/1964)
REPRODUCTION AND GENETICS	(01/02/1964)
NUCLEIC ACID THE INFORMATION CARRIER	(08/02/1964)
The MESSENGER OF THE GENES	(15/02/1964)
SOLVING THE CODE	(22/02/1964)
LIVING ARCHITECTURE The VIRUSES	(29/02/1964)
THE WAY AHEAD	(07/03/1964)



Abbildung 6. John Kendrew hatte einen größeren Einfluss auf meine Karriere als irgendwer sonst, allerdings eher indirekt. Ein Jahr nachdem er 1962 den Nobelpreis erhalten hatte, schrieb und präsentierte Kendrew eine BBC-Sendereihe mit dem Titel „Der Lebensfaden“. Ich war zwei Monate, bevor die Ausstrahlung des Programms am 4. Januar 1964 begann, aus Südafrika gekommen, lebte bei meiner Tante und meinem Onkel, beide Wissenschaftler, in London und hatte niemals zuvor ferngesehen. Auch wenn der Bildschirm klein, die Auflösung gering und die Farben mehr schwarz und gelb als schwarz und weiß waren, war ich sofort süchtig. Zum Glück habe ich Kendrews Sendung, die es nicht mehr gibt, gesehen und bekam den fantastischsten Einführungskurs in die Molekularbiologie, den man sich vorstellen kann. Die Themen, die behandelt wurden, könnten das Grundgerüst eines heutigen Kurses in Molekularbiologie sein, der (am 4. Januar 1964) mit „Die Revolution in der Biologie“ anfangen und (wie am 7. März 1964) mit „Der Weg vor uns“ enden könnte.

ten auswählte. Ich stieß im Oktober 1967, im Alter von 20 Jahren, dazu, genau als mit diesen Arbeiten begonnen wurde (Abbildung 5). Ich sollte zunächst ihr Computerprogrammierer sein und ein Programm schreiben, das die potentielle Energie, ihre erste Ableitung – den Kraftvektor – und ihre zweite Ableitung – die Krümmung der Energieoberfläche – berechnet.

Das ging erstaunlich schnell, und innerhalb von sechs Monaten liefen nützliche Rechnungen auf dem sehr leistungsfähigen Golem-A-Computer am Weizmann-Institut. Golem A war eine selbstgebaute Maschine der zweiten Generation, die dem Mitte der 1950er Jahre entwickelten Weizac folgte und die von John von Neumann am Institute for Advanced Study in Princeton entwickelte Architektur nutzte. Golem A war von 1964 bis 1974 in Betrieb und hatte einen Speicher von 32 768 Wörtern à 75 Bits (ca. 300 000 Bytes). Er war mit auf Lochkarten geschriebenen Programmen in der Programmiersprache FORTRAN programmiert.

Ein Mann, John Kendrew, brachte dieses unwahrscheinliche Dreiergespann (Lifson, Warshel und Levitt) zusammen, und er tat es mit beachtlichem Weitblick. Wie oben und in Abbildung 2 erwähnt, teilte sich Kendrew 1962 den Nobelpreis für Chemie mit Max Perutz. Etwa ein Jahr später hielt Kendrew eine Vortragsreihe beim Fernsehsender BBC (Abbildung 6), die meine Aufmerksamkeit erregte, als ich als 17-jähriger Junge gerade in London angekommen war. Die neuen Entdeckungen in der „Molekularbiologie“ genannten

potentielle Energie eines Moleküls

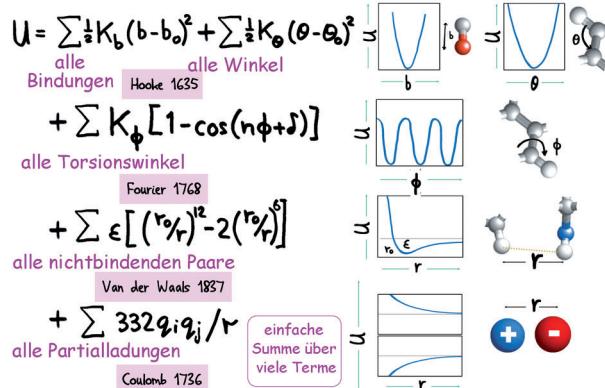
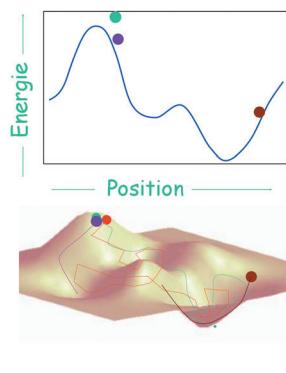


Abbildung 7. Die Energiefunktion eines beliebigen Moleküls ist klassisch, da sie zum einen keine Quantenmechanik nutzt und zum anderen auf einer klassischen Beschreibung des Moleküls als eine Ansammlung von durch Federn verbundenen Kugeln beruht. Die hier gezeigten Terme werden mit geringfügigen Änderungen seit 1970 verwendet. Sie berücksichtigen Bindungsstreckschwingungen und Bindungswinkelbiegeschwingungen als harmonische Federn. Für die Freiheitsgrade b und θ definieren die Energieparameter b_0 bzw. θ_0 die Gleichgewichtswerte. Die potentielle Energie einer Einfachbindung oder eines Bindungswinkels steigt, wenn die Bindung (oder der Winkel) gestaucht oder auseinandergezogen wird. Die Steifheit der Feder wird durch andere Energieparameter, K_b und K_θ , definiert. Die übrigen Energieterme sind etwas komplizierter, aber sie ähneln den einfachen Bindungs- und Winkeltermen insofern, als sie von der Art der wechselwirkenden Atome abhängen und jede Wechselwirkung in einfacher additiver Weise einen Beitrag zur potentiellen Energie liefert. Verschiedene Terme verwenden verschiedene Energieparameter, die mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate aus dem Vergleich berechneter molekularer Eigenschaften mit gemessenen bestimmt werden müssen. Lifson und Warshel haben diesen Prozess 1968 begonnen, und er wird immer noch genutzt, um die modernsten klassischen molekularen Potentialenergiefunktionen zu verfeinern. Die neuesten Kraftfelder basieren auf quantenmechanischen Berechnungen höherer Ordnung^[10] anstatt auf experimentellen Daten.

Wissenschaft waren so aufregend, dass ich mich entschied, Physik am King's College in London zu studieren, wo Maurice Wilkins, der sich 1962 den Nobelpreis mit Crick und Watson teilte, zu Hause war und im dritten Studienjahr Biophysik belegt werden konnte. 1967, gegen Ende meines B.Sc.-Studiums, bewarb ich mich um eine Doktorandenstelle bei Kendrew und Perutz am Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology in Cambridge, aber sie lehnten mich wegen Platzmangels ab. Überredet von Freunden (die später sehr erfolgreiche Geschäftsleute wurden) bat ich, für 1968 in Erwägung gezogen zu werden. Dieses Mal luden sie mich zu einem Vorstellungsgespräch ein, doch ihre Entscheidung, mich für 1968 in Erwägung zu ziehen, ließ mich in der Luft hängen. Wieder überredeten mich meine Freunde, und ich fuhr nach Cambridge, überfiel Max Perutz im Flur und brachte ihn dazu, meinen Fall mit Kendrew zu besprechen. Ich zog mich fluchtartig zurück und war überglocklich, als ich einige Tage später hörte, dass ich garantiert für das Jahr 1968 angenommen war. Kendrew bestand darauf, dass ich das dazwischenliegende Jahr mit Lifson am Weizmann-Institut

Abtasten einer Energiehyperfläche



- EM: Durch Energieminimierung wird ein lokales Minimum erreicht.
Euclid 325 v.Chr.
- NMD: Die Normalmodendynamik schwingt um das Minimum.
Galileo 1564
- MD: Die Moleküldynamik nutzt die thermische Energie für ein sanftes Abtasten der Oberfläche
Newton 1643
- MC: Monte-Carlo-Bewegungen sind zufällig; angenommen mit der Wahrscheinlichkeit $\exp(-\Delta U/kT)$.
Metropolis 1953

Abbildung 8. Kennt man die Potentialenergiefunktion eines beliebigen molekularen System, können alle statischen, dynamischen und thermodynamischen Eigenschaften mit einfachen Methoden berechnet werden. Energieminimierung (EM) ist insofern einfach, als man die Potentialfläche (für eine und für zwei Dimensionen gezeigt) abtastet, um ein lokales Minimum zu erreichen, in dem alle wirkenden Kräfte an allen Atomen gleich null sind und das System im Gleichgewicht ist. Die Normalmodendynamik (NMD) konzentriert sich auf die Potentialfläche nahe dem Minimum. Die Potentialfläche ist hier schalenförmig, und das System wird einem analytischen Pfad folgend um das Gleichgewicht schwingen. Moleküldynamik (MD) ist eine eher allgemeine Methode, um eine molekulare Bewegung zu simulieren, die nicht notwendigerweise in einem Energiebassin erfolgen muss. Sie ist eine algorithmisch einfache Variante der Energieminimierung. Die Konformation wird verändert, um den wirkenden Kräften in Richtung eines lokalen Minimums zu folgen; der Verlust an potentieller Energie wird in kinetische Energie umgewandelt, die jedem Atom eine Geschwindigkeit gibt und ihm so ermöglicht, sich über Energiebarrieren hinweg zu bewegen. Während die drei Methoden EM, NMD und MD alle vor Jahrhunderten aufgekommen sind, ist die vierte Methode, bekannt als Monte Carlo (MC), deutlich jünger, entstanden mit der Simulation der Neutronendiffusion in Wasserstoffbomben. Sie ist die einfachste und zugleich die am allgemeinsten anwendbare Methode (siehe Abbildung 14).

verbrachte, und machte mir, der gerade seinen B.Sc. erhalten hatte, diesen Vorschlag mit einem Austausch-Postgraduiertenstipendium der Royal Society für dieses Institut schmackhaft.

Die Beschreibung der potentiellen Energie eines Moleküls mithilfe des konsistenten Kraftfelds (Abbildung 7) ist sehr leistungsfähig, da damit durch Kombination aller in Abbildung 8 gezeigten Methoden alle Eigenschaften eines Molekülsystems berechnet werden können. Im Glauben an die Übertragbarkeit aller Energieparameter erkannte ich, dass die Methoden von Lifson und Warshel erweitert werden konnten, obwohl diese keine Aminosäuren in ihre Bestimmung der Parameter einbezogen und sogar nur für zwei (H und C) der vier in Aminosäuren üblichen Atomtypen (H, C, N, O) die Energieparameter bestimmt hatten. Dies brachte mich dazu, mit Rechnungen an Proteinmolekülen mit vielen hundert Atomen anzufangen, obwohl Warshel und Lifson nur Moleküle mit wenigen Atomen untersucht hatten.^[9] Meine Idee war es, die Energie der atomaren Struktur eines ganzen Proteins durch Bewegung der Atome in kartesischen Koor-



Das Modell eines kleinen Proteins zu bauen lässt sich mit dem Lösen eines tausendteiligen dreidimensionalen Puzzles vergleichen.

Es ist mühsam und zeitaufwendig, aber am Schluss kennt man das Molekül wirklich. Und dann will man es unbedingt computerisieren.

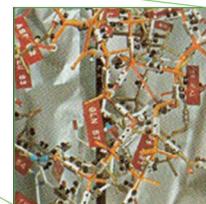


Abbildung 9. Wie in Abbildung 2 und 3 gezeigt, wurden die physikalischen Modelle der ersten Proteinstrukturen aus Messingbauteilen, bekannt als Kendrew-Modelle, gebaut. 1968 baute ich zusammen mit Yuval Eshdat ein solches Modell des Hühnereiweiß-Lysozums unter Verwendung der von David Phillips (Abbildung 4) ermittelten Koordinaten, die Nathan Sharon, Yuvals Doktorvater, als Computerausdruck erhalten hatte. Solches händisches Modellieren war langsam und schwierig, aber es lieferte mir den Anstoß, die ersten Energieberechnungen an einem vollständigen Protein zu machen (Abbildung 10).

Minimierung der Energie eines Makromoleküls 1969

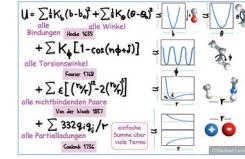
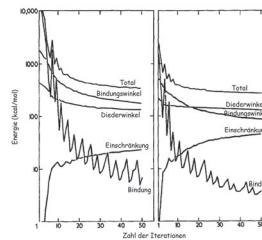
Refinement of Protein Conformations using a Macromolecular Energy Minimization Procedure

MICHAEL LEVITT† AND SHENKIOR LIFSON
Weizmann Institute of Science

J. Mol. Biol. (1969) 46, 269–279



$$E = \sum_{\text{all bonds}}^{\frac{1}{2} K_b (b - b_0)^2 + \sum_{\text{all bond angles}}^{\frac{1}{2} K_\theta (\tau - \tau_0)^2 + \sum_{\text{all dihedral angles}}^{\frac{1}{2} K_\phi \{1 + \cos(n\theta - \delta)\}} \\ + \sum_{\text{all non-bonded pairs}}^{\sum_{ij} \epsilon_{ij} \{(r_{ij}^0/r_{ij})^{12} - 2(r_{ij}^0/r_{ij})^6\}} + \sum_{\text{all atomic co-ordinates}}^{\frac{1}{2} w (x_i - x_i^0)^2}$$



erste Verfeinerung einer Proteinstruktur

Abbildung 10. Mithilfe des Gradientenverfahrens wurden alle Nichtwasserstoffatome der beiden Proteine Myoglobin und Lysozym durch Änderung der kartesischen Koordinaten bewegt. Das reduzierte die wirkenden Kräfte und verschob die Struktur in Richtung der Gleichgewichtsstruktur. Beachten Sie, wie eine Einschränkung der Atompositionen genutzt wurde, um Grenzen der Energiefunktion, hauptsächlich die Auslassung der elektrostatischen Coulomb-Terme, zu korrigieren. In unserer Veröffentlichung^[11] werden 50 Minimierungsschritte genannt, was für heutige Standards sehr wenig ist; diese 50 Schritte dauerten auf dem Golem-A-Computer etwa 1000 Sekunden. Die für die Energieminimierungen verwendete Kätfberechnung kann auch genutzt werden, um Moleküldynamiken zu simulieren (Abbildung 8), wie Annesur Rahman bereits für flüssiges Argon gezeigt hatte^[12] und was er später zusammen mit Frank Stillinger für das deutlich komplizierte flüssige Wasser getan hat.^[13]

dinaten (x, y, z) zu minimieren. Solch eine Berechnung war trotz des geringen Speichers von Golem A machbar, weil für eine Energieminimierung nicht die ersten Ableitungen be-

EINSTEIN* über Vereinfachung

Alles sollte so einfach wie möglich,
aber nicht einfacher gemacht werden.

*Einstein hat diesen Aphorismus vielleicht geschaffen, aber es gibt dafür in seinen Schriften keinen direkten Beleg. In einem Vortrag hat er etwas Ähnliches, aber nicht so Knappes gesagt. Der Komponist Roger Sessions spielte bei der Verbreitung des Ausspruchs eine zentrale Rolle. Vielleicht hat er ihn selbst geschaffen, als er versuchte, eine von Einstein stammende Idee zu umschreiben.

<http://quoteinvestigator.com/2011/05/13/einstein-simple/>

Abbildung 11. Der Schlüssel zu nützlichen Multiskalenmodellen ist eine angemessene Vereinfachung des komplexen zu untersuchenden chemischen Systems. In unserer Arbeit war Einfachheit aus drei Gründen notwendig. Erstens mussten die Rechnungen mit den sehr begrenzten Computerressourcen machbar sein, die uns mit Golem A, einem der leistungsstärksten Rechner im Jahr 1967, zur Verfügung standen. Zweitens musste die Parametrisierung mit einer kleinen Zahl an Parametern und übertragbaren Atomtypen möglich sein (siehe Text). Drittens musste der dem Modell zugeordnete Konformationsraum einfach genug sein, um eine angemessene Untersuchung verschiedener Strukturen zu ermöglichen.

nötigt werden: Es reichte, den Kräften mit dem Verfahren des steilsten Abstiegs (Gradientenverfahren) bergab zu folgen. Man stelle sich ein kleines Molekül mit 30 Atomen vor. Seine Matrix der zweiten Ableitung benötigt $(3 \times 30)^2 / 2 = 4050$ Programmspeicherwörter. Dieser Platz genügt für den Vektor der ersten Ableitung eines Proteins mit 1350 Atomen, mehr als genug für Lysozym mit 964 schweren Atomen oder Myoglobin mit 1120 schweren Atomen.

Die Frage war, woher man die röntgenographisch bestimmten Atomkoordinaten dieser beiden Proteine nehmen sollte. Glücklicherweise hatten Prof. Nathan Sharon und sein Doktorand Yuval Eshdat Ausdrucke der Atomkoordinaten dieser Proteine von David Phillips und John Kendrew bekommen, sodass sie ein Messingdrahtmodell mit den sogenannten Watson-Kendrew-Komponenten bauen konnten. Ich hatte angeboten, Yuval beim Bau des Lysozym-Modells zu helfen (Abbildung 9). Dies erlaubte mir, den Ausdruck auf Lochkarten zu übertragen und dann die erste Energieminimierung einer gesamten Proteinstruktur durchzuführen (Abbildung 10).

Das war der Beginn der Multiskalenmodellierung komplexer Makromoleküle, die vom Nobelpreiskomitee für Chemie geehrt wurde. Das Hauptproblem war die Vereinfachung, wie schon Einstein sagte (Abbildung 11). Unsere Berechnungen mussten einfach sein, um innerhalb eines sinnvollen Zeitraums fertig zu sein, aber sie mussten auch nützliche Ergebnisse liefern. Der ersten Energieminimierung für ein Protein mit allen schweren Atomen 1969 folgte 1975 ein Modell, das die Struktur vereinfachte, indem es mit nur einem wechselwirkenden Zentrum pro Seitengruppe arbeitete (Abbildung 12). Dies ermöglichte uns die erste Simulation einer Proteinfaltung, das Falten einer langen Polypeptidkette.^[14,15] Die Methoden, die für diese vereinfachten Systeme verwendet wurden, waren eigentlich komplizierter, weil sie

Coarse-Grained-Simulation der Faltung 1975

Michael Levitt* & Arieh Warshel* Nature Vol. 253 February 27 1975

Department of Chemical Physics, Weizmann Institute of Science, Rehovoth, Israel

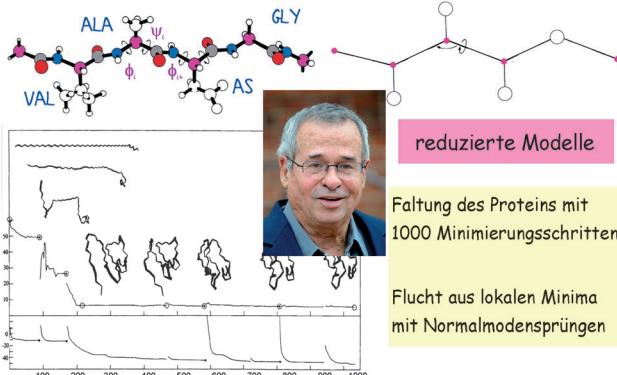


Abbildung 12. Die erste Energieberechnung zur Proteinfaltung benötigte eine drastische Vereinfachung durch die Verwendung von dem, was heute als Coarse-grained-Energiefunktionen bekannt ist. Bei der Proteinfaltung zielen wir darauf, den Konformationsraum vollständig zu untersuchen, um die Konformere niedriger Energie zu finden, die nicht nur lokalen Energieminima entsprechen. Dazu vereinfachten wir die Polypeptidkette durch das Zusammenfassen aller Seitenkettenatome in einem einzigen Wechselwirkungszentrum und aller Hauptkettenatome in einem zweiten Wechselwirkungszentrum. Manchmal haben wir auch ein noch einfacheres Modell mit einem Wechselwirkungszentrum pro Aminosäurerest verwendet. Die Diederwinkel wurden so verändert, dass die Zahl der Freiheitsgrade um das etwa Dreißigfache reduziert und die Zeit, um einen einzelnen Energiewert zu berechnen, um das etwa Hundertfache verkürzt wurde. Die Energieminimierung führte im ersten Schritt zu einem echten lokalen Minimum. Anschließend wurde die Trajektorie fortgesetzt, indem die Senke um das lokale Minimum durch eine analytische Funktion beschrieben und diese für die Vorhersage eines Sprungs aus der Senke mit dem geringstmöglichen Energieanstieg genutzt wurde. 1000 Durchgänge dauerten etwa 600 Sekunden auf einem IBM-370/165-Computer.

die Diederwinkel wie in der Pionierarbeit von Scheraga und Gibson^[16] veränderten und zusätzlich Normalmoden nutzten, um Pfade niedriger Energie aus den lokalen Minima heraus zu berechnen. Dadurch waren große Konformationsänderungen während der Energieminimierung möglich (Abbildung 12).

Der nächste Einsatz der Multiskalenmodellierung hing von Arieh Warshels Kenntnissen der Quantenmechanik ab (Abbildung 13) und führte zur QM/MM-Methode, die Arieh weiter verbessert hat. In den darauf folgenden zehn Jahren entwickelten wir zusammen mit Ruth Sharon ein Modell für ein Protein mit allen Atomen in einer Box expliziter Wassermoleküle (Abbildung 14). Mit diesem wirklichkeitsnahen Modell konnte die Simulation näher an der bekannten Kristallstruktur bleiben als bei der früheren Simulation im Vakuum. Mit dieser größeren Realitätsnähe konnten Dr. Valeria Daggett und ich die Entfaltung einer α -Helix simulieren (Abbildung 15).

Die Zeit zwischen 1967 und 1976 waren meine „goldenen Jahre“, in denen meine ersten 13 Veröffentlichungen erschienen, sechs davon von mir alleine, fünf weitere mit Arieh Warshel und darunter zwei auch mit Shneior Lifson. Obwohl der Fokus auf den Multiskalenmodellen lag, behandeln diese

Quantenmechanik für Enzymreaktionen 1976

J. Mol. Biol. (1976) 103, 227–249

A. WARSHEL AND M. LEVITT

Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology
Hills Road, Cambridge CB2 2QH, England

and

Department of Chemical Physics
The Weizmann Institute of Science
Rehovot, Israel

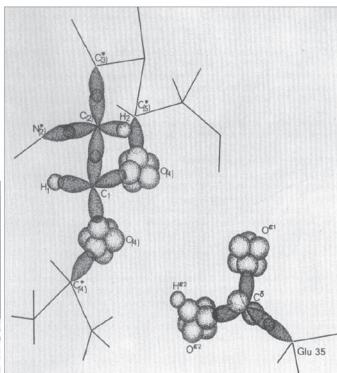
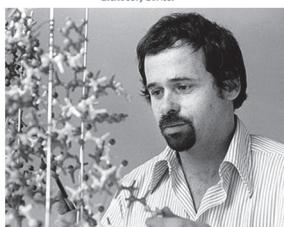


Abbildung 13. Als Phillips die Lysozymstruktur im Kristall bestimmt hatte, schlug er vor, dass die katalytische Aktivität dieses Enzyms darauf beruht, dass die Bindungsenergie für die Verzerrung des Substrats verwendet wird. Genau gesprochen nahm er vom sechsgliedrigen Zuckerring neben der zu brechenden Bindung an, dass er von der Sessel- zur Twist-Boot-Konformation verzerrt wird. Berechnungen, die ich während meiner Promotion durchgeführt habe^[17] und die in einem Tagungsbericht veröffentlicht wurden,^[18] zeigten aber, dass das Enzym zu weich ist, um solche Verzerrungen zu verursachen, und führten uns dazu, elektrostatische statt sterische Spannung vorzuschlagen. Zusammen mit Arieh Warshel fügten wir quantenmechanische Orbitale zu einem kleinen Teil des Systems hinzu, während der Rest nach wie vor klassisch behandelt wurde. Dies wurde als QM/MM bekannt. Die jetzt möglichen Rechnungen zeigten, dass das Substrat tatsächlich elektrostatisch gespannt ist.^[19]

Arbeiten auch die tRNA-Struktur, das Falten von RNA, die Vorhersage von Sekundärstrukturen und die Analyse der strukturellen Eigenschaften kugelförmiger Proteine.

Die Gegenwart: Multiskalendynamik großer Systeme

Vieles in der Biologie wird heute als angetrieben durch große molekulare Maschinen, die aus Hunderttausenden von Atomen bestehen, angesehen. Anders als kleine, kugelförmige Proteine sind diese Maschinen Komplexe aus vielen verschiedenen Proteinketten mit beweglichen und fest stehenden Teilen ganz wie die Maschinen, die wir aus der Welt um uns herum kennen. Solche Systeme mit der gleichen Art atombasierter Moleküldynamikmethoden zu untersuchen ist nicht sinnvoll, da 100 000 Atome 300 000 kartesische Koordinaten erfordern und 1 000 000 Wiederholungen nötig wären, um gerade einmal eine Mikrosekunde zu simulieren (der Abstand zwischen Simulationszeitschritten beträgt üblicherweise eine Femtosekunde). Selbst wenn die Rechnungen machbar wären, würde die Auswertung irgendeiner Form der Vereinfachung bedürfen. Vereinfachung ist auf zwei Arten möglich. Zum einen kann die Zahl der Freiheitsgrade beibehalten, aber die Zahl der wechselwirkenden Zentren reduziert werden. Das entspricht dem, was wir beim Coarse-grained-Modell machen (Abbildung 12). Zum anderen kann

Simulation einer Proteindynamik in Lösung 1988

MICHAEL LEVITT* AND RUTH SHARON

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 85, pp. 7557–7561, October 1988

Department of Chemical Physics, Weizmann Institute of Science, Rehovot 76100

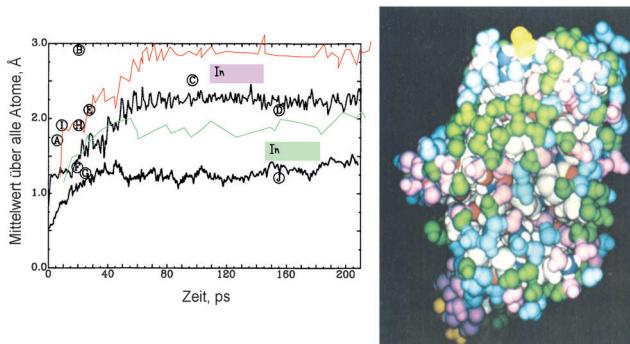


Abbildung 14. Die erste Moleküldynamikrechnung an einem Protein^[20] wurde im Vakuum gemacht. Diese Vereinfachung beschleunigte die Simulation außerordentlich, ließ aber einen sehr wichtigen Teil des Systems aus: das Lösungsmittel. Die Simulation von Proteinen in einer periodischen Box mit expliziten Wassermolekülen ist sehr viel schwieriger, da das Kraftfeld für das Protein mit dem Kraftfeld für das Wasser zusammenpassen muss. Effizienz ist von höchster Bedeutung, da jede Energieberechnung 10- bis 20-mal langsamer ist. Die erste Simulation des kleinen Proteins BPTI in Wasser zeigte, dass das Protein viel näher an der Kristallstruktur bleibt als bei der Simulation im Vakuum.^[21] Demzufolge nutzen nahezu alle aktuellen Rechnungen dieses Verfahren und berücksichtigen Tausende von Wassermolekülen. In einem Video in den Hintergrundinformationen ist diese erste Proteindynamik im Vakuum zu sehen.

die Zahl der wechselwirkenden Zentren – der Atome – beibehalten werden, für die Verschiebung aber auf kollektive Freiheitsgrade statt kartesischer Koordinaten zurückgegriffen werden. Beide Tricks können kombiniert werden, wie wir es für die Simulation der Proteinfaltung getan haben (Abbildung 12). Die gleiche Art von Abkürzungen wird in modernen Untersuchungen der Dynamik großer molekularer Maschinen genutzt. Das wollen wir hier an drei Beispielen verdeutlichen.

Die RNA-Polymerase II ist eine unentbehrliche makromolekulare Maschine, die in den Zellkernen gespeicherte DNA in eine Arbeitskopie, die RNA, überträgt, die dann für die Proteinsynthese und eigenständig als verschiedenartige funktionelle RNA genutzt wird. Dieses Enzym wurde ausgiebig von meinem guten Freund und Kollegen Prof. Roger Kornberg untersucht, der das System charakterisiert, isoliert und die detaillierte dreidimensionale Struktur des aktiven Komplexes aufgeklärt hat.^[25] Nachdem er 2006 den Nobelpreis für Chemie gewonnen hat, wollten viele in meiner Gruppe mit ihm und seiner Gruppe zusammenarbeiten (wir gehören zum gleichen, sehr kleinen Fachbereich in Stanford). Für mich war das Interessante, dass es sich dabei um einen großen Molekülkomplex handelt, aber auch um einen, über den ein guter Kollege immenses Wissen zu allen Aspekten des Systems hat. RNA-PolII ist ein großes System aus zehn Proteinketten, dem DNA-Templatstrang und der wachsenden RNA-Kette. Und es ist eine Maschine mit fest stehenden und beweglichen Teilen.

Moleküldynamiksimulation der Helixdenaturierung

Valerie Daggett und Michael Levitt

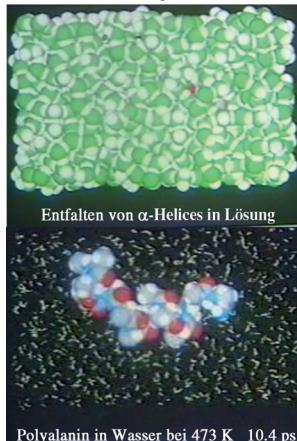
J. Mol. Biol. (1992) **223**, 1121–1138

Abbildung 15. Die Simulation einer temperaturinduzierten Entfaltung: 1992 war die Leistungsfähigkeit der Computer so weit fortgeschritten, dass die Entfaltung einer kurzen α -Helix aus 13 Alaninresten in einer großen Wasserbox berechnet werden konnte.^[22] Bei Raumtemperatur ist die α -Helix vollständig stabil, bei steigender Temperatur jedoch wird sie immer weniger stabil. Wir haben außerdem gezeigt, dass die α -Helix im Vakuum sehr stabil ist. Das konnte man erwarten, aber solche Plausibilitätstests waren in den frühen Tagen des Simulierens unerlässlich. In den zwei Jahrzehnten danach wurden Computer deutlich leistungsstärker, und Berechnungen viel größerer Systeme sind mit Social Computing^[23] oder mit Spezialhardware möglich^[24] (siehe das Video in den Hintergrundinformationen).

Gemeinsam mit Prof. Xuhui Huang, damals ein Postdoc und heute an der Universität Hong Kong, setzten wir das System mit einer sehr großen Box expliziter Wassermoleküle auf (Abbildung 16). Danach führten wir viele unabhängige und relativ kurze Moleküldynamikrechnungen durch, wobei

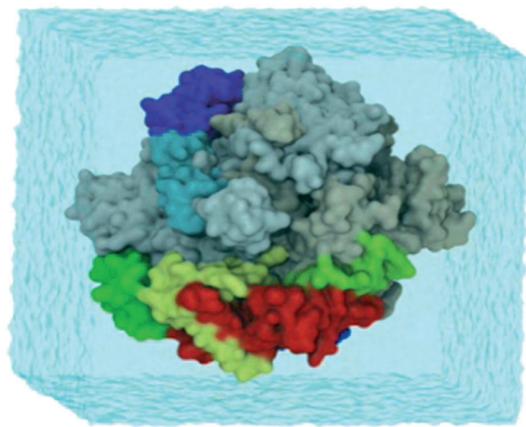


Abbildung 16. Zustandsdynamik der RNA-Polymerase II: Eine lange Simulation der Moleküldynamik großer Systeme in Wasser mit einem Markow-Zustandsmodell^[26] ist hier für die Aktivität der großen molekularen Maschine RNA-PolII gezeigt, die eine Base des DNA-Templatstangs über die verbrückende Helix bewegt, so dass sie vom richtigen ankommenden Nucleosidtriphosphat erkannt werden kann. Simulationen über Mikrosekunden sind für ein System aus fast 500 000 Atomen einfach möglich, wie das Video in den Hintergrundinformationen belegt.

wir mit Konformationen begannen, die durch Verändern der Struktur auf einem Weg zwischen Endpunkten,^[27] die die biologische Funktion charakterisieren, erhalten wurden. Anschließend nutzten wir das Markow-Zustandsmodell^[26] (Markov State Model, kurz MSM), um die Konformationen entlang der Trajektorien in „Zuständen“ zusammenzufassen. Entdeckten wir einen Übergang zwischen zwei Zuständen, wurden diese verbunden, um ein Diagramm der Zustände zu erhalten. Bewegungen auf einer längeren Zeitskala wurden durch zufällige Sprünge von einem zusammenhängenden Zustand zum nächsten simuliert. Dies ist wunderbar in einem Video von Dr. Daniel Silva zu sehen, der mit Prof. Huang zusammenarbeitet; das Video ist Teil einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung.^[28]

Im zweiten Projekt widmeten wir uns einem noch größeren System, dem vollständigen Ribosom (Abbildung 17), für dessen Strukturaufklärung Ramakrishnan, Steitz und Yonath 2010 der Nobelpreis für Chemie verliehen wurde.^[30–32] Diese bislang unveröffentlichte Arbeit führte ich zusammen mit Jenelle Bray und Junjie Zhang durch, der vor kurzem Postdoc bei mir war und jetzt an der Texas A&M University ist. Wir berechneten mithilfe von Torsionswinkel-Normalmoden, wie sich das System bewegt. Dazu wurden zwei unterschiedliche Modelle für die atomaren Wechselwirkungen genutzt: a) ein Coarse-grained-Modell, genannt 1pt, das ein Punktwechselwirkungszentrum pro Aminosäure oder Nukleotid verwendet, und b) ein Modell, das alle Atome außer nichtpolaren Wasserstoffatomen berücksichtigt. Die Rechnungen waren sehr schnell; sie dauerten nicht länger als einen

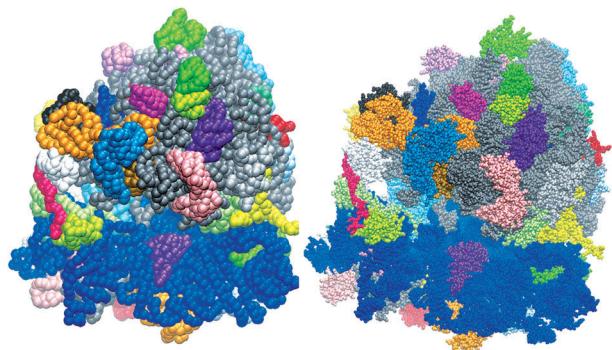


Abbildung 17. Coarse-grained- und Alle-Atome-Normalmodendynamik eines gesamten Ribosoms: Zusammen mit Jenelle Bray und Junjie Zhang wurde die 1985 von uns entwickelte Diederwinkel-Normalmoden-Methode^[29] so verbessert, dass sie für jede Zahl unabhängiger Körper, jeder mit seinen eigenen Rotations- und Translationsfreiheitsgraden, geeignet ist. Obwohl das vollständige Ribosom mit 4500 Nukleotiden in 7 RNA-Ketten und 6000 Aminosäuren in 49 Proteinketten groß ist, können wir seine niederfrequenten Bewegungen mit nur 538 Freiheitsgraden, 6 für jede der 56 Ketten und zusätzlich 202 innere Freiheitsgrade, darstellen. Die Bewegung wurde mit allen 167 000 Atomen sowie mit 11 062 Wechselwirkungszentren in einer Coarse-grained-Darstellung ähnlich der, die wir entwickelt haben,^[14] simuliert. Die Bewegungen der vier energieärmsten Schwingungsmoden sind für die beiden Modelle sehr ähnlich. Das Video dieser Schwingungsmoden in den Hintergrundinformationen zeigt eine funktionell naheliegende relative Bewegung der schweren (30S) und der leichten (16S) Teilchen, die unterschiedliche Bewegungen des Enzyms, wie ein Zuklappen, Verdrehen und Wackeln, beinhaltet.

Tag auf meinem Laptop. Diese Beschleunigung ergab sich aus der Anwendung von Monique Tirions Trick,^[33] eine künstliche Energiefunktion zu verwenden, um sicherzustellen, dass die Startkonformation aus der Röntgenstrukturanalyse tatsächlich einem lokalen Minimum entspricht. Dieses auch als quasi-elastisches Modell bekannte Vorgehen behandelt alle paarweisen Wechselwirkungen als Federn, deren Gleichgewichtsabstand dem aktuellen Abstand in der Startstruktur entspricht. Unsere Programme können jede beliebige Energiefunktion verwenden und im Torsionswinkelraum minimieren; diese Arbeit ist noch nicht veröffentlicht.

Die von uns verwendeten Freiheitsgrade sind insofern ungewöhnlich, als sich jede Protein- und jede RNA-Kette als starrer Körper mit einigen wenigen zusätzlichen inneren Freiheitsgraden bewegt. Die Wahl dieser Freiheitsgrade erfolgt willkürlich, aber wir haben die einfachsten verwendet, indem wir einen einzigen Torsionswinkel-Freiheitsgrad nach jeder Streckschwingung von 50 Aminosäure- oder Nucleotidresten entlang einer jeden Kette zuließen. Trotz dieser Vereinfachung zeigt das Video mit den vier energieärmsten Schwingungsmoden eine Bewegung, die helfen kann zu erklären, wie das Ribosom sich bewegt, wenn es aktiv ist.

Beim dritten Projekt wurde eine andere der in Abbildung 8 gezeigten Methoden zur Simulation von Bewegung genutzt, und zwar Monte-Carlo-Zufallsbewegungen. Wegen der Einfachheit dieser Methode können mit ihr schnell Energiefunktionen aufgebaut werden, ohne dass mühsame analytische Ableitungen nötig sind, wie ich sie mit 20 Jahren programmiert hatte (Abbildung 5). Zudem kann sie mit jedem beliebigen Satz an Freiheitsgraden kombiniert werden, der das System in völlig willkürlicher Art stört. Entscheidend ist, die Freiheitsgrade zu finden, die es der Konformation erlauben, sich deutlich zu verändern, ohne dass dabei die Gesamtenergie so stark ansteigt, dass die vorgeschlagene Bewegung völlig unannehmbar wird. Hierfür entwickelte Dr. Peter Minary, seinerzeit als Postdoc in meiner Gruppe und jetzt an der Oxford University, eine neue Methode, die Natural-Move-Monte-Carlo(NM-MC)-Methode,^[34] die eine Erweiterung einer anderen bahnbrechenden Untersuchung ist.^[35] Die Idee war, einem Freiheitsgrad zu erlauben, die Struktur beliebig zu verzerrn. Diese Verzerrung kann auch den Bruch von Bindungen umfassen, was üblicherweise mit hohem Energieaufwand einhergeht. Minaries neuer Algorithmus, Recursive Stochastic Chain Closure genannt, korrigiert die gebrochene Bindung lokal, während er die natürliche Störung durch die Bewegung belässt.

Zusammen mit Adelene Sim, meiner damaligen Doktorandin und jetzt Postdoc am Bioinformatik-Institut in Singapur, zeigten Minary und ich, dass bei sorgfältig gewählten „natürlichen Bewegungen“ die Monte-Carlo-Methode den Konformationsraum einer großen Haarnadel-RNA sehr effizient abtasten kann (Abbildung 18). Für diesen Ansatz sind viele Anwendungen vorstellbar, darunter die First-Principles-Vorhersage der Lage von Nucleosomen durch Berechnung der DNA-Deformationsenergie, indem das von uns hauptsächlich genutzte Kraftfeld verwendet wird. Diese Näherung, um ein Nucleosom an der DNA zu lokalisieren, berücksichtigt die Wechselwirkungen der DNA mit dem Nucleosom nicht, liefert aber genauso gute Ergebnisse

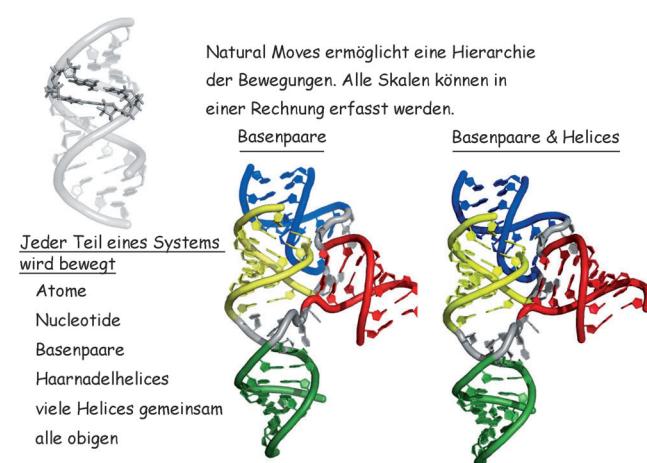


Abbildung 18. NM-MC-Rechnung an RNA: Diese neue Methode, die mit Peter Minary^[34] entwickelt und von Adelene Sim getestet wurde,^[36] ermöglicht es, ein molekulares System in beliebigen Freiheitsgraden zu bewegen. Anders als die Torsionswinkelvariable (Abbildung 15) brechen diese „natürlichen Bewegungen“ gebundene Ketten, was sonst unannehmbar hohe Energiewerte erzeugen und zur Ablehnung aller Bewegungsschritte führen würde. Wir nutzen stochastische Kettenschlüsse, um gebrochene Ketten schnell zu schließen, und entscheiden im nächsten Schritt anhand der üblichen Monte-Carlo-Kriterien (siehe Abbildung 7) über die Annahme oder Ablehnung der Bewegung. Bei unserem Ansatz kann jeder Satz an natürlichen Bewegungen kombiniert werden, was zu sehr schnellem Abtasten des Konformationsraums führt. Hier ist das für RNA gezeigt, eine Klasse von Molekülen mit einem Konformationsraum, der sehr schwer abzutasten ist.

wie die Vorhersage der Nucleosomlage mit wissensbasierten Methoden. In dieser Untersuchung wird die gekrümmte DNA mit der NM-MC-Methode relaxiert, bevor eine mittlere Deformationsenergie ermittelt wird.^[37]

Die Zukunft: Untersuchungen in computergestützter Biologie

Meine Gruppe ist heute viel kleiner als früher, doch dies ist beabsichtigt, damit mehr Mittel der National Institutes of Health für die Förderung jüngerer Wissenschaftler zur Verfügung stehen. Außerdem kann ich mich so auf meine vielfältigen Interessen konzentrieren, wie ich es in meinen goldenen Jahren zwischen 1967 und 1977 getan hatte. Vier Projekte umfassen Aspekte der computergestützten Biologie.

Dr. Andrea Scaiewicz arbeitet an einem Projekt, das mit der Genomik und den Proteinfunktionen zu tun hat, ohne die dreidimensionale Struktur der Proteine im Detail zu berücksichtigen. Sie ordnet alle Sequenzen eines Genoms anhand ihrer funktionellen Motive und nutzt dies dann, um alle bekannten Genome zu vergleichen. Die Methode skaliert gut und ermöglicht es, zigtausende vollständige Genome zu vergleichen.

Dr. Ivan Ufimtsev wendet sein in der Doktorarbeit erworbenes Fachwissen über die Dichtefunktionaltheorie auf ein lange bekanntes, sehr schwieriges Problem an, die Ermittlung der Kristallstrukturen von Makromolekülen aus den Intensitäten der Röntgenstreuung. Dass Phasen, die

gemeinhin nach der Schweratomersatz-Methode von Perutz bestimmt werden, entfielen, würde die Strukturaufklärung drastisch beschleunigen, insbesondere, wenn superintensive Strahlen von Freien-Elektronen-Lasern verwendet würden.

Dr. Yana Gofman entwickelt Methoden, um Membranproteinstrukturen mit Kryoelektronenmikroskopie zu bestimmen und zu verfeinern. Sie arbeitet unabhängig in einem Kooperationsprojekt mit Experimentatoren, das von der neuen Generation von Mikroskopen mit höherer Auflösung profitieren wird.

Dr. Nir Kalisman (nun an der Hebrew University, Jerusalem) verwendet chemische Verlinkung und massenspektrometrische Daten zusammen mit Strukturdaten aus niedrigauflösenden Röntgenbeugungsmessungen und Kryoelektronenmikroskopie, um die Strukturen großer Komplexe mit weniger Daten zu bestimmen. Er hat Studien über das eukaryotische Chaperonin (CCT)^[38] und den eukaryotischen PIC (transcript pre-imitation complex)^[39] veröffentlicht. In beiden Fällen konnte er mit seinen Methoden fehlerhafte Kettenzuordnungen früherer Studien korrigieren und genaue Modelle liefern, welche die Molekülfunktion erklären.

Anwendungen in der Biomedizin

Das Verschieben der experimentellen Chemie in den virtuellen Raum, den Cyberspace, sollte für die biomedizinische Wissenschaft sehr wichtig sein, da dann Hypothesen schneller überprüft werden können. Natürlich gilt das nur, wenn die Rechnungen eine genaue Vorhersage experimenteller Ergebnisse liefern. Der notwendige Grad an Genauigkeit hängt stark von der Fragestellung ab. Eine der offensichtlichsten Anwendungen für Rechenmethoden in der Biomedizin ist die Entwicklung besser und spezifischer an ein bestimmtes therapeutisch relevantes Zielprotein bindender Wirkstoffe. Diese Aufgabe ist aus drei unabhängigen Gründen sehr schwierig: a) Empirische Energiefunktionen existieren nicht für alle Atomtypen, die in Wirkstoffmolekülen auftreten, b) die Bindungsstärke ist von der Gibbs-Energie der Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und Protein relativ zur Energie beider in Lösung abhängig, was eine Vielzahl an Berechnungen im Konformationsraum erfordert, und c) eine kleine Änderung der Gibbs-Energie kann einen starken Einfluss auf die Bindungsenergie haben (1 kcal führt zu einer Verfünffachung der Affinität). Neue quantenmechanische Kraftfelder^[40] machen Hoffnung auf genauere Energiewerte.

Glücklicherweise brauchen manche Fragestellungen weniger Rechengenauigkeit. So wurde ich 1987 gebeten, ein Start-up-Unternehmen, Protein Design Labs (PDL), zu beraten und ihnen zu helfen, bessere Antikörper zu entwickeln. Sie bat mich, ein dreidimensionales Modell einer beliebigen Antikörpersequenz zu bauen, sodass sie sich ein Bild davon machen konnten, welche Aminosäuren die wichtigsten waren (Abbildung 19). Die Aufgabe war also, einen Antikörperwirkstoff gegen einen natürlichen Rezeptor zu entwickeln, der bei Krebs eine Rolle spielt. Antikörper können einfach aus Mäusen erhalten werden, die mit dem jeweiligen Zielmolekül geimpft wurden. Aber diese Antikörper waren ungeeignet, da sie von menschlichen Zellen als Fremdkörper

A humanized antibody that binds to the interleukin 2 receptor

(chimeric antibody/antibody affinity/autoimmune disease)

CARY QUEEN*, WILLIAM P. SCHNEIDER*, HAROLD E. SELICK*, PHILIP W. PAYNE*, NICHOLAS F. LANDOLEH*, JAMES F. DUNCAN*, NEVENKA M. AVDALOVIC*, MICHAEL LEVITT*, RICHARD P. JUNGHANS*, AND THOMAS A. WALDMANN*

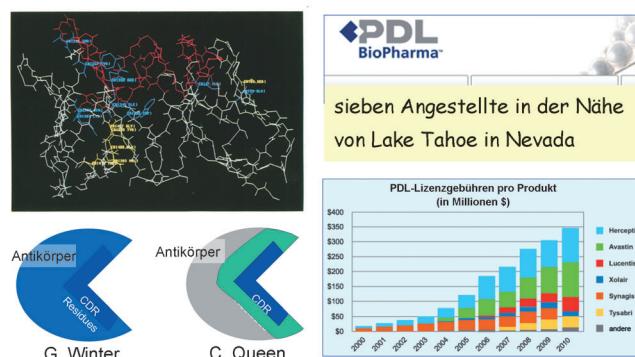


Abbildung 19. Computermodellierung „humanisiert“ Antikörper: Antikörper sind die Abwehrkräfte des Körpers, aber manchmal brauchen sie Hilfe, um Angreifer zu erkennen. Arbeiten, die als akademische Übung begannen,^[41,42] führten zu einer automatisierten Methode für die Modellierung der Struktur beliebiger Antikörpersequenzen.^[43] Mehr als zwei Jahrzehnte später hatte sich aus dieser Arbeit, durch die Kombination mit Gentechnik, durch Patentierung, Marketingkönnen und gewaltige Investitionen in die Produktion, über einen mühsamen Weg eine der erfolgreichsten Krebstherapien entwickelt. Weitere Details sind im Text zu finden, aber hiermit sei die mögliche Leistung computergestützter Methoden in der Medizin gezeigt. Das Beispiel belegt außerdem, wie lang der Weg von der Grundlagenforschung zum praktischen Einsatz ist.

angesehen wurden und starke Immunreaktionen verursachten. Was getan werden musste, war offensichtlich: Die Maus-Antikörpersequenz musste als Ausgangspunkt verwendet und ihre Sequenz so verändert werden, dass der Antikörper menschlichen Zellen nicht mehr fremd erschien, aber seine Fähigkeit behielt, Krebszellen zu erkennen und zu zerstören. Die Pionierarbeiten dazu stammen von der Gruppe von Winter, die die Teile des Maus-Antikörpers, die den Krebs erkennen, einem Grundgerüst menschlicher Antikörper aufgepfropft hat.^[44] Leider waren die resultierenden „humanisierten“ Antikörper nicht so wirksam wie die ursprünglichen Maus-Antikörper. Cary Queen bei PDL nutzte die Computermodelle, die ich für sie gebaut hatte, um zu entscheiden, welche zusätzlichen Reste am Grundgerüst geändert werden müssen (Abbildung 19). Das führte schließlich zu einer Reihe erfolgreicher auf dem PDL-Patent basierender Tumortherapie. Die bekanntesten darunter sind Herceptin und Avastin, aber es brauchte Jahrzehnte und Milliarden von Dollar, um von der reinen Forschung zum klinisch nutzbaren Wirkstoff zu gelangen.

Einige allgemeine Überlegungen

Kurz nachdem mich die gute Nachricht in Kalifornien um 2:16 Uhr am Morgen des 9. Oktober geweckt hatte, erwähnte ich in einem Interview, dass der Preis eigentlich an vier hätte gehen müssen, nämlich auch noch an die Computerindustrie, deren massive Forschungs- und Entwicklungsleistung zu unvorstellbaren Gewinnen bei der Rechenzeit geführt hatte

Jahr	Kosten	Geschwindigkeit	Speicher	Größe
1967	\$40 \times 10^6	0.1 MHz	1 MB	HALLE
2013	\$4000	1 GHz	10 GB	LAPTOP
Veränderung	10000	10000	10000	10000

Wenn Autos wie Computer wären, würde ein neuer Volvo heute drei Dollar kosten, eine Höchstgeschwindigkeit von 1 Million km/h haben, 50000 Erwachsene transportieren und in einen Schuhkarton passen.

Abbildung 20. Vorwärts durch Technologie: Es ist schwer vorstellbar, wie sehr Computer sich seit unseren ersten Rechnungen 1967 entwickelt haben. Überraschenderweise gibt es eine 10000-fache Verbesserung in vier Bereichen: Kosten, Geschwindigkeit, Speichergröße, physikalische Größe. Das bedeutet, dass die Kosten einer einzelnen Rechnung heute 100 000 000-mal geringer sind. Die Auto-Analogie wurde bereits früher verwendet, aber nicht so detailliert.

(Abbildung 20). Dieser Zuwachs an Leistung, der so entscheidend war, um die von uns vor 45 Jahren entwickelten Multiskalenmodelle wertvoll zu machen, war eine Reaktion auf die allgemeine, nicht auf die wissenschaftliche Nachfrage. Der Cray-X-MP-Supercomputer war für die erste Berechnung einer Proteinmoleküldynamik in Wasser 1986 (Abbildung 14) essenziell, aber ein Jahrzehnt später machte Linus Torvalds Linux-Betriebssystem die Heim- und Bürocomputer für die Wissenschaften einsetzbar. Dadurch fielen die Preise: Die Chipentwicklung ist ungeheuer teuer und muss sich durch den Verkauf einer großen Zahl an Computern rechnen. In gewisser Weise zwang der stete Verlust an Effizienz bei den aufeinanderfolgenden Windows-Betriebssystemen Intel dazu, eine immer schnellere Hardware zu entwickeln – ein unerwarteter Glücksfall für die computergestützte Forschung.

Ich habe die Arbeit, die das Nobelkomitee gewürdigt hat, im Alter von 20 Jahren begonnen, als ich von John Kendrew zur richtigen Zeit an den richtigen Ort geschickt worden war. Zehn Jahre später war sie im Grunde erledigt, aber ich blieb ein aktiver Forscher und Mentor, der stolz ist, ein Programmierer zu sein.^[45] Ich bin außerdem mit einer wunderbaren Ehefrau, Rina, gesegnet, die mir drei Söhne gebar und das Familienleben während dieser sehr schwierigen frühen Jahre aufrecht erhielt. Darum möchte ich der Jugend mit vier einfachen Ratschlägen weiterhelfen (Abbildung 21). Sicherlich ist es leicht, Ratschläge zu erteilen, und ich hoffe, dass ich mehr helfe, indem ich sicherstelle, dass junge Wissenschaftler die gleichen außerordentlichen Möglichkeiten haben, wie sie mir von meinen Mentoren geboten wurden.

Ein Bereich der Ratschläge gilt der Notwendigkeit, aus seiner Komfortzone heraus- und Risiken einzugehen (Abbildung 22). Allerdings sollte ich wohl auch erwähnen, dass manche Dinge vielleicht zu riskant sind (Abbildung 23), aber was Dich nicht umbringt, macht Dich vielleicht stärker? Allmählich nähert sich dieser ungewöhnliche Bericht seinem Ende, und daher will ich nun Shneior Lifson (Abbil-

- sei leidenschaftlich
- sei hartnäckig
- sei originell
- sei freundlich und gut

Abbildung 21. Mein Rat an die Jugend: Erwachsene neigen dazu, zu viele Ratschläge zu geben, daher gebe ich diese in der Erwartung, dass sie ignoriert werden. Die vier Punkte sind eigentlich ziemlich offensichtlich, aber sie haben bei mir eindeutig funktioniert. Leidenschaft ist für jedes Unterfangen notwendig. Hartnäckig zu sein bedeutet, Du glaubst an Dich; wenn nicht, warum sollte dann jemand anderes an Dich glauben? Ist man originell, ist der Wettbewerb weniger problematisch. Ist man freundlich und gut, wird man Freunde und nicht Feinde haben.



Abbildung 22. Gehe Risiken ein: Es ist schwierig, die Folgen von Taten vorherzusagen. Risiken einzugehen kann einen an wunderbare Orte bringen, die man ansonsten verpasst hätte. Das gilt in der Wissenschaft wie im echten Leben. Als eine Tagung in Schweden, an der ich teilnahm, in Uppsala und nicht auf den Stockholmer Schären stattfand, beschloss ich, alleine dorthin zu fahren. Da mir vom Wandern auf den kleinen und flachen Inseln abgeraten wurde, mietete ich online einen Seekajak. Zur Vorbereitung fand ich einen kurzen Film und brach am Wochenende vor der Sommersonnenwende auf. Ich war völlig allein auf dem Wasser, aber die See war ruhig und die Schwäne beruhigend, bis der Wind aufkam (Fortsetzung in Abbildung 23).

dung 24 A), meinem ersten Mentor am Weizmann-Institut, sowie John Kendrew, Max Perutz, Francis Crick, Bob Diamond und Aaron Klug (Abbildung 24 B), meinen Mentoren in Cambridge, danken. Leider sind nur Diamond und Klug noch am Leben, um diese Worte zu lesen. Alle zusammen sind sie meine überragenden Wissenschaftshelden.^[46]

Ich danke außerdem dem Nobelkomitee für Chemie 2013 (Abbildung 24 C), das es gewagt hat, die Rolle zu würdigen, die Computer in der Multiskalenmodellierung von in der Biologie so wichtigen komplexen chemischen Systemen spielen. Diese Arbeit ist inhärent interdisziplinär, indem sie von der Mathematik und Physik der atomaren Wechselwirkungen über chemische Reaktionen in der Biologie bis zur biomedizinischen Therapeutik reicht. Als eine Folge der Auszeichnung mit dem Nobelpreis hat das gesamte Feld der computergestützten Biologie gewonnen (Abbildung 25). Seit ich 1987 nach Stanford gekommen bin, hatte ich stets eine außergewöhnliche Gruppe von Doktoranden und Postdocs um mich (Abbildung 26), und ich danke ihnen allen herzlich dafür, dass sie mich so viel gelehrt haben. Meine Arbeit wird von den National Institutes of Health unterstützt (R01-Preis GM063817).

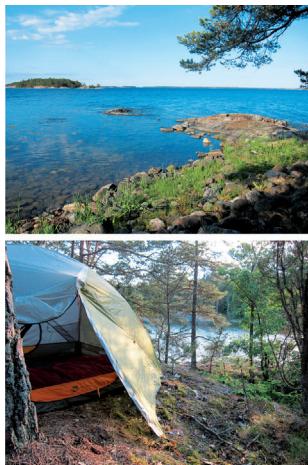


Abbildung 23. Aber sei nicht zu leichtsinnig: Das Wasser hatte nur 12°C, sodass ich dicht am Ufer blieb, als ich übte, den Kajak auszubalancieren. Nach einem erschreckenden Zusammentreffen mit einer Korvette der Visby-Klasse der schwedischen Marine, die vorbeifuhr, als ich gerade mein Boot auf Grund setzte, fuhr ich mit dem Wind im Rücken weiter die Küste hinauf zur Ornö-Kirche. Danach steuerte ich zurück Richtung Süden und entdeckte eine kleine Insel auf der Strecke, auf der ich über Nacht zeltete. Ich hatte eine schwedische SIM-Karte und fühlte mich dank E-Mail und Internet ganz ruhig. Dennoch war es schwierig, ohne Schlafbrille zu schlafen, etwas Unentbehrliches in diesen kurzen Nächten. Am nächsten Morgen machte ich mich auf den Rückweg und hatte Mühe, rund einen Kilometer offenes Wasser gegen den Wind zu überqueren. Meine Insel war ein Paradies, aber vielleicht war mein Trip etwas zu riskant?

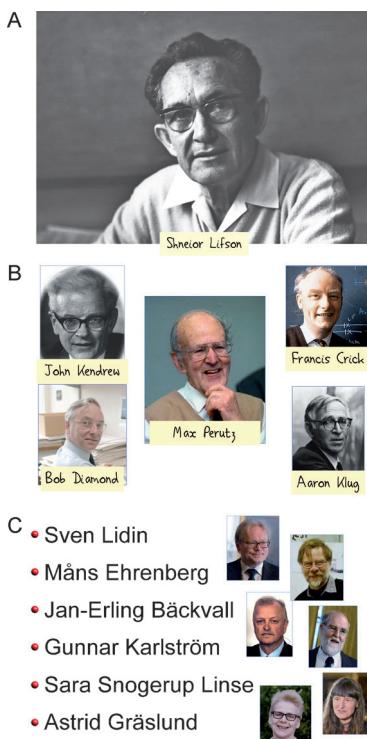


Abbildung 24. Mein besonderer Dank gilt: A) Shneior Lifson, meinen Mentor am Weizmann-Institut. B) John Kendrew, Max Perutz, Bob Diamond, Francis Crick und Aaron Klug, meinen Mentoren in Cambridge. Bob Diamond war mein Doktorvater, doch er erwartete von uns Unabhängigkeit: Ich habe nie eine Veröffentlichung zusammen mit Diamond geschrieben, aber wir haben viele ähnliche Arbeiten parallel in derselben Zeitschrift veröffentlicht. C) Dem Komitee für die Vergabe des Nobelpreises für Chemie 2013. Das mag naheliegend sein, weil es mich neben anderen mit dem Nobelpreis ausgezeichnet hat. Nein, ich danke ihm für den Mut, die Rolle anzuerkennen, die Computer dabei gespielt haben, die Chemie komplexer, biologischer Systeme aus dem experimentellen Labor in den virtuellen Raum zu bringen. Angesichts des unglaublichen Zuwachses an Rechenleistung besteht kein Zweifel, dass die Anerkennung eines Arbeitsgebietes von zunehmender Bedeutung in der biomedizinischen Wissenschaft selbst als Einrichtung eines neuen Arbeitsgebietes begriffen werden wird.



Abbildung 25. Diese Anerkennung macht das Gebiet der computergestützten Strukturbioologie und tatsächlich das weitere Feld der computergestützten Biologie, all die, die im Glauben daran gearbeitet haben, dass Computer und Biologie zusammen gehören, zu Gewinnern. Dieses Foto wurde auf dem American-Football-Platz in Stanford gemacht, während eines Spiels gegen UCLA am 19. Oktober, nur zehn Tage nach der Verkündung des Chemie-Nobelpreises. Zu hören, wie 50 000 Leute „Nobelpreis, Nobelpreis“ skandieren, ist eine unauslöschliche, wertvolle Erinnerung.

Doktoranden

Miriam Hirshberg
Chris Lee
Britt Park
Dave Hinds
Enoch Huang
Jerry Tsai
Yu Xia
Michael Sykes
Rachel Kolodny
Nizar Batada
Sergio Moreno

Dahlia Weiss
Gaurav Chopra
Adelene Sim

Postdocs

S. Subbiah
Valerie Daggett
Peter David
Mark Gerstein
Steven Brenner
Boris Fain
Chen Keasar

Golan Yona
Ram Samudrala
Tanya Raschke
Patrice Koehl
Erik Sandelin
Chris Summa
Erik Lindahl
Julian Gough
Peter Minary
Gunnar Schroeder
Karine Bastard
Avraham Samson

Xuhui Huang
Julie Bernauer
Alena Shmygelska
Mitul Saha
Nir Kalisman
Andrea Scaiewicz
Jenelle Bray
Marie Brut
Junjie Zhang
Leonid Pereyaslavets
Yana Gofman
Ivan Ufimtsev



Abbildung 26. Ehemalige und derzeitige Mitglieder meiner Arbeitsgruppe: Seit 1987 hatte ich das Privileg, Mentor für 14 Doktoranden und 29 Postdocs zu sein. Sie sind alle Teil meiner Familie, und die Mehrheit ist meinem Beispiel gefolgt und hat eine unabhängige akademische Laufbahn eingeschlagen. In meinen ersten 20 Jahren als selbstständig arbeitender Wissenschaftler habe ich zusammen mit anderen oder alleine gearbeitet und mir nicht zugetraut, andere anzuleiten.

Eingegangen am 25. März 2014
Online veröffentlicht am 5. August 2014

- [1] „Molecular Structure for Nucleic Acids“: J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737–738.
- [2] „Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids“: M. H. F. Wilkins, A. R. Stokes, H. R. Wilson, *Nature* **1953**, *171*, 738–740.
- [3] „Structure of Myoglobin: A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 2 Å Resolution“: J. C. Kendrew, R. E. Dickerson, B. E. Strandberg, R. G. Hart, D. R. Davies, D. C. Phillips, V. C. Shore, *Nature* **1960**, *185*, 422–427.
- [4] „The Three-Dimensional Structure of a Protein Molecule“: J. C. Kendrew, *Sci. Am.* **1961**, *205*, 96–110.
- [5] „The Structure of Haemoglobin. IV. Sign Determination by the Isomorphous Replacement Method“: D. W. Green, V. M. Ingram, M. F. Perutz, *Proc. R. Soc. London Ser. A* **1954**, *225*, 287–307.
- [6] „Structure of Haemoglobin: A Three-Dimensional Fourier synthesis at 5.5 Å Resolution, Obtained by X-ray Analysis“: M. F. Perutz, M. G. Rossmann, A. F. Cullis, H. Muirhead, G. Will, A. C. T. North, *Nature* **1960**, *185*, 3416–3422.
- [7] „The Hen Egg-White Lysozyme Molecule“: D. C. Phillips, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1967**, *57*, 483–495.
- [8] „The Three-Dimensional Strcuture of an Enzyme Molecule“: D. C. Phillips, *Sci. Am.* **1966**, *205*, 96–110.
- [9] „A Consistent Force Field for Calculation on Conformations, Vibrational Spectra and Enthalpies of Cycloalkanes and n-Alkane Molecules“: S. Lifson, A. Warshel, *J. Phys. Chem.* **1968**, *49*, 5116–5129.
- [10] „A Quantum Mechanical Polarizable Force Field for Biomolecular Interactions“: A. G. Donchev, V. D. Ozrin, M. V. Subbotin, O. V. Tarasov, V. I. Tarasov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 7829–7834.
- [11] „Refinement of Protein Conformations Using a Macromolecular Energy Minimization Procedure“: M. Levitt, S. Lifson, *J. Mol. Biol.* **1969**, *46*, 269–279.
- [12] „Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon“: A. Rahman, *Phys. Rev.* **1964**, *136*, A405–A411.
- [13] „Molecular Dynamics Study of Liquid Water“: A. Rahman, F. H. Stillinger, *J. Chem. Phys.* **1971**, *55*, 3336–3359.

- [14] „Computer Simulation of Protein Folding“: M. Levitt, A. Warshel, *Nature* **1975**, *253*, 694–698.
- [15] „A Simplified Representation of Protein Conformations for Rapid Simulation of Protein Folding“: M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1976**, *104*, 59–107.
- [16] „Minimization of Polypeptide Energy. I. Preliminary Structures of Bovine Pancreatic Ribonuclease S-peptide“: K. D. Gibson, H. A. Scheraga, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1967**, *58*, 420–427.
- [17] „Conformation Analysis of Proteins“: M. Levitt, Ph.D. Thesis, Cambridge University, Cambridge, UK, **1971**. http://csb.stanford.edu/levitt/Levitt_Thesis_1971/Levitt_Thesis_1971.html.
- [18] „On the Nature of the Binding of Hexa-N-Acetyl Glucosamine Substrate to Lysozyme“: M. Levitt, *Peptides, Polypeptides and Proteins*, Wiley, New York, **1974**, pp. 99–113.
- [19] „Theoretical Studies of Enzymic Reactions: Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme“: A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1976**, *103*, 227–249.
- [20] „Dynamics of Folded Proteins“: J. A. McCammon, B. R. Gelbin, M. Karplus, *Nature* **1977**, *267*, 585–590.
- [21] „Accurate Simulation of Protein Dynamics in Solution“: M. Levitt, R. Sharon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 7557–7561.
- [22] „Molecular Dynamics Simulation of Helix Denaturation“: V. Daggett, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1992**, *223*, 1121–1138.
- [23] „Atomistic Protein Folding Simulations on the Submillisecond Time Scale Using Worldwide Distributed Computing“: V. S. Pande, I. Baker, J. Chapman, S. P. Elmer, S. Khaliq, S. M. Larson, M. R. Shirts, C. D. Snow, E. J. Sorin, B. Zagrovic, *Biopolymers* **2003**, *68*, 91–109.
- [24] „Anton: A Special-Purpose Machine for Molecular Dynamics Simulation“: D. E. Shaw, M. M. Deneroff, R. O. Dror, J. S. Kuskin, R. H. Larson, J. K. Salmon, C. Young, B. Batson, K. J. Bowers, J. C. Chao, M. P. Eastwood, J. Gagliardo, J. P. Grossman, C. R. Ho, D. J. Ierardi, I. Kolossvary, J. L. Klepeis, T. Layman, C. McLeavey, M. A. Moraes, R. Mueller, E. C. Priest, Y. Shan, J. Spengler, M. Theobald, B. Towles, S. C. Wang, Proceedings of the 34rd Annual International Symposium on Computer Architecture (ISCA), San Diego, June **2007**.

- [25] „Die molekularen Grundlagen der eukaryotischen Transkription (Nobel-Vortrag)“: R. Kornberg, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7082–7092; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *48*, 6956–6965.
- [26] „Automatic Discovery of Metastable States for the Construction of Markov Models Of Macromolecular Conformational Dynamics“: J. D. Chodera, N. Singhal, V. S. Pande, K. A. Dill, W. C. Swope, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 155101–17.
- [27] „Can Morphing Methods Predict Intermediate Structures?“: D. Weiss, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **2009**, *385*, 665–674.
- [28] „Millisecond Dynamics of RNA Polymerase II Translocation at Atomic Resolution“: D.-A. Silva, D. Weiss, F. Pardo, L.-T. Da, M. Levitt, D. Wang, X. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 6293–6298.
- [29] „Protein Normal-Mode Dynamics: Trypsin Inhibitor, Crambin, Ribonuclease and Lysozyme“: M. Levitt, C. Sander, P. S. Stern, *J. Mol. Biol.* **1985**, *181*, 423–447.
- [30] „Die Aufklärung der Ribosomenstruktur (Nobel-Aufsatz)“: V. Ramakrishnan, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4454–4481; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4355–4380.
- [31] „Von der Struktur und Funktion des Ribosoms zu neuen Antibiotika (Nobel-Aufsatz)“: T. A. Steitz, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4482–4500; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4381–4398.
- [32] „Winterschlafende Bären, Antibiotika und die Evolution des Ribosoms (Nobel-Aufsatz)“: A. Yonath, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4438–4453; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4340–4354.
- [33] „Large Amplitude Elastic Motions in Proteins from a Single-Parameter, Atomic Analysis“: M. Tirion, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 1905–1908.
- [34] „Conformational Optimization with Natural Degrees of Freedom: A Novel Stochastic Chain Closure Algorithm“: P. Minary, M. Levitt, *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 993–1010.
- [35] „Molecular Flexibility in ab initio Drug Docking to DNA: Binding-Site and Binding-Mode Transitions in All-Atom Monte Carlo Simulations“: R. Rohs, I. Bloch, H. Sklenar, Z. Shakked, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 7048–7057.
- [36] „Modeling and Design by Hierarchical Natural Moves“: A. Y. L. Sim, M. Levitt, P. Minary, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 2890–2895.
- [37] „Training-free atomistic prediction of nucleosome occupancy“: P. Minary, M. Levitt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 7665–7670.
- [38] „Subunit Order of Eukaryotic TRiC/CCT Chaperonin by Cross-linking, Mass Spectrometry and Combinatorial Homology Modeling“: N. Kalisman, C. M. Adams, M. Levitt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 2884–2889.
- [39] „Architecture of an RNA polymerase II transcription pre-initiation complex“: K. Murakami, H. Elmlund, N. Kalisman, D. A. Bushnell, C. M. Adams, M. Azubel, D. Elmlund, Y. Levi-Kalisman, X. Liu, B. J. Gibbons, M. Levitt, R. D. Kornberg, *Science* **2013**, *342*, 1238724.
- [40] „Application of a polarizable force field to calculations of relative protein–ligand binding affinities“: O. Khoruzhii, A. G. Donchev, G. Nikolay, A. Illarionov, M. Olevanov, V. Ozrin, C. Queen, V. Tarasov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 10378–10383.
- [41] „The Predicted Structure of Immunoglobulin D1.3 and its Comparison with the Crystal Structure“: C. Chothia, A. M. Lesk, M. Levitt, A. G. Amit, R. A. Mariuzza, S. E. V. Phillips, R. J. Poljak, *Science* **1986**, *233*, 755–758.
- [42] „The Conformations of Immunoglobulin Hypervariable Regions“: C. Chothia, A. M. Lesk, M. Levitt, A. Tramontano, S. J. Smith-Gill, G. Air, S. Sheriff, E. A. Padlan, D. Davies, W. R. Tulip, P. M. Colman, *Nature* **1989**, *342*, 877–883.
- [43] „A Humanized Antibody that Binds to the IL-2 Receptor“: C. Queen, W. P. Schneider, H. E. Selick, P. W. Payne, N. F. Landolfi, J. F. Duncan, A. M. Avdalovic, M. Levitt, R. P. Junghans, T. A. Waldmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 10029–10033.
- [44] „Replacing the Complementarity-Determining Regions in a Human Antibody with those from a Mouse“: P. T. Jones, P. H. Dear, J. Foote, M. S. Neuberger, G. Winter, *Nature* **1986**, *321*, 522–525.
- [45] „Michael Levitt National Academy of Science USA Member Details“: http://nrc88.nas.edu/pnas_search/memberDetails.aspx?ctID=3012570.
- [46] „Life-Long Influence of Max Perutz and the Laboratory of Molecular Biology“: M. Levitt in *Memories and Consequences* (Ed.: H. Huxley), **2013**. http://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/ebooks/Memories_and_consequences-Hugh_Huxley.epub.