

УДК 577.151.03

**ИЗГИБНЫЕ ФЛУКТУАЦИИ α -СПИРАЛЕЙ И ДИНАМИКА
ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ****К. В. ШАЙТАН, А. Б. РУБИН***Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова*

Предложена стохастическая модель динамики белка, структура которого содержит относительно жесткие элементы. Рассмотрены флуктуации щели, образованной жесткими элементами, и динамика взаимодействия субстрат — щель при образовании фермент-субстратного комплекса. Ферментативная реакция рассматривается как многостадийный релаксационный процесс. Для описания электронно-конформационных взаимодействий в этой ситуации предложена модель многомерной диффузии в конфигурационном пространстве с поглощающей областью. Показано, что лимитирующей стадией катализа ($\tau \sim 10^{-2} \div 10^{-4}$ с), по-видимому, является образование вследствие конформационных движений строго определенной конфигурации групп активного центра и субстрата, обеспечивающей эффективное много-центровое химическое взаимодействие.

Представления об электронно-конформационных (ЭКВ) и электронно-колебательных взаимодействиях [1—8] являются естественной основой для понимания физических механизмов функционирования биомакромолекул. В предыдущей работе [8] мы проанализировали с этой точки зрения процессы электронного транспорта и в рамках развитой ранее стохастической модели динамики белка [9, 10] предложили конкретное физическое описание электронно-конформационных взаимодействий и простейших молекулярных «машин». При этом рассматривались в основном микроконформационные движения с амплитудами $0,3 \div 1$ Å и временами корреляции $\sim 10^{-7} \div 10^{-9}$ с, которые соответствуют **локальным движениям** различных белковых групп типа заторможенного вращения, мягких деформаций и т. д. Эти степени свободы играют, по-видимому, основную роль в процессах электронного транспорта [6, 8, 11]. Однако распространение представлений об электронно-конформационных взаимодействиях на реакции, сопровождающиеся конформационными изменениями в более обширных областях белка (например, на ферментативный катализ), невозможно без дальнейшего развития динамической теории биомакромолекул. Очевидно, что описание более крупномасштабных изменений требует модификации имеющейся модели в направлении более конкретного учета реальной структуры белка.

Согласно имеющимся данным, в молекулах белка кроме лабильных боковых групп присутствуют и относительно жесткие элементы [12], в качестве которых могут выступать чередующиеся α - и β -участки, определенным образом сочлененные друг с другом [13]. Специфика конформационной динамики такой структуры, включающей жесткие элементы (которые ниже мы будем отождествлять с α -спиралями), в отличие от динамики простой цепочки осцилляторов обусловлена присутствием спирального полипептидного каркаса (модуль Юнга $E \sim 10^{10} - 10^{11}$ эрг/см³), стабилизированного невалентными взаимодействиями. Спиральный полипептидный участок в определенном приближении можно рассматривать как трубку или стержень, что оказывается весьма существенным при описании изгибных флуктуаций. Аналогичный подход был использован ранее в теории флуктуаций ДНК [14—16], также обладающей определенной жесткостью. Ниже мы разовьем этот подход применительно к специфике белка. Отметим, что продольные и крутильные смещения в α -спиралях, по нашим оценкам, не пре-

вышают 1 Å и могут быть отнесены в условиях сильного затухания к локальным микроконформационным движениям.

Таким образом, мы рассмотрим конформационную динамику молекулы белка, в которой α -спиральные или относительно жесткие участки моделируются гибкими стержнями, шарнирно сочлененными друг с другом (рис. 1). Боковые группы образуют жидкоподобную опушку, которая эффективно демпфирует изгибные движения α -спиралей. Иными словами, молекулу белка мы моделируем жидкой каплей, армированной упругим α -спиральным каркасом. Эти представления находятся в согласии с результатами исследований конформационной подвижности белка методами рентгенодинамического анализа [17], мёссбауэровской спектроскопии [18—20], диффузии лигандов в белках [21, 22] и оптическими методами [23]. Сравнение этих данных показывает, что иерархия в структурной организации белка находит свое отражение в динамических характеристиках различных элементов структуры. В конечном счете это приводит к иерархии амплитуд и времен релаксации конформационных движений отдельных элементов и групп биомакромолекул.

Исследование изгибных флуктуаций жестких элементов позволяет подойти к анализу диффузии относительно крупных молекул в такой структурированной системе. Диффузия в этом случае в отличие от простых жидкостей имеет специфические особенности, связанные с геометрическими ограничениями на возможную форму флуктуационных полостей и щелей. Особенно ярко это должно проявляться в процессе образования и превращения фермент-субстратных комплексов.

При больших концентрациях субстрата лимитирующей стадией ферментативного катализа является превращение таких комплексов в продукты реакции со скоростью, сравнимой с обратным временем оборота фермента ($10^2 \div 10^4 \text{ с}^{-1}$) [24—26]. Эти величины на много порядков превосходят возможные значения скоростей аналогичных реакций в растворах, что говорит об уникальности химических механизмов ферментативного катализа. В настоящее время не существует общей физической теории, позволяющей оценить скорость ферментативной реакции, исходя из анализа взаимодействий в активном центре фермента. Причиной тому является очевидная сложность описания многоцентровых химических взаимодействий, ответственных за катализ [3, 27, 28]. Однако механизмы катализа, относящиеся к собственно химической стадии перераспределения связей, не снимают конформационно-динамический аспект проблемы. В самом деле, есть основания считать, что с химической точки зрения практически все ферментативные реакции протекают по общему механизму кислотно-основного катализа специфического вида [24—26]. Поэтому индивидуальные различия здесь следует искать скорее не в природе самого химического акта, а в структурно-динамической организации ферментов и в характере связи динамики белка с элементарным актом реакции.

С точки зрения современной теоретической биофизики, ключом к пониманию особенностей ферментативного акта является анализ связи конформационной динамики фермент-субстратного комплекса с изменением электронно-колебательного (или химического) состояния субстрата [1—8, 12, 23—28]. Эти представления имеют и экспериментальные подтверждения [18, 20—22, 29—31]. Так, согласно представлениям, развиваемым в работе Блюменфельда [4], в ферментативном катализе вследствие ЭКВ происходит многостадийная конформационная релаксация комплекса из начального неравновесного состояния, вызванного присоединением субстрата к активному центру, в конечное равновесное, соответствующее образованию продуктов реакции и регенерации фермента. Вместе с тем конкретные физические механизмы, связанные с

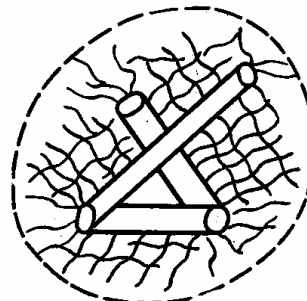


Рис. 1. Модель жидкой капли, армированной упругим каркасом, для молекулы белка

динамикой белка, и их роль на разных стадиях катализа, начиная с проникновения субстрата к активному центру и образования в нем химически активной конфигурации, остаются неясными. Очевидно, что построение физических моделей динамики фермент-субстратных взаимодействий на разных этапах катализа необходимо для решения проблемы конформационной подвижности белка и ее связи с механизмами ферментативного катализа.

Известно, что на поверхности белков-ферментов имеется, как правило, щель, образованная относительно жесткими элементами структуры [2, 24—26]. Образование фермент-субстратного комплекса связано с проникновением или диффузией молекулы субстрата в щель, причем акт диффузии, естественно, возможен лишь при определенном раскрытии щели. Мы рассмотрим вопрос о флуктуациях формы щели и диффузии субстрата, сопряженной с этими флуктуациями, а также роль этих факторов в обеспечении селективности взаимодействия субстрат—фермент. Как будет показано ниже, селективность на стадии образования комплекса оказывается непосредственно связанной с геометрией жестких элементов щели, определяющих наиболее вероятный профиль ее флуктуационного раскрытия.

Скорость проникновения субстрата в фермент и образование комплекса в области субстратного насыщения не лимитирует скорости ферментативной реакции [2, 3, 24—26] и, согласно оценкам, проведенным ниже, характерное время проникновения субстрата в активный центр составляет величину $\sim 10^{-5} \div 10^{-8}$ с. Однако среднее время достижения строго определенной химически активной конфигурации системы субстрат+группы активного центра (после проникновения субстрата), по нашим данным, сравнимо по порядку величины с временами оборота ферментов. Иными словами, лимитирующей стадией реакции является, по-видимому, не сам процесс перераспределения связей в строго определенном каталитическом комплексе, а именно этап образования этой активной конфигурации за счет конформационных движений в фермент-субстратном комплексе. С этой точки зрения ферментативный катализ представляет собой электронно-конформационную релаксацию комплекса, включающую многомерную ограниченную диффузию в конфигурационном пространстве групп активного центра. При попадании в активную область в этом пространстве осуществляется быстрый каталитический акт, т. е. система в данном случае работает как многомерный стохастический челнок, аналогичный рассмотренному ранее [8]. Этот подход позволяет конкретизировать понятие об электронно-конформационных взаимодействиях [1—3] и релаксационную концепцию [4] для ферментативного катализа.

ИЗГИБНЫЕ ФЛУКТУАЦИИ α -СПИРАЛЕЙ

Рассмотрим один из α -спиральных фрагментов молекулы белка и обозначим радиус α -спирали R ($R \approx 5$ Å), а длину фрагмента — L (рис. 2). Выделим элемент dz длины стержня и рассмотрим действующие на него силы. Как известно [32], при изгибании стержня круглого сечения с модулем Юнга E на элемент dz действует сила упругости:

$$\partial F_{el} = -\frac{\pi}{4} ER^4 \frac{\partial^4 x}{\partial z^4} dz.$$

Если стержень погружен в жидкость с вязкостью η , то сила трения, действующая на элемент dz , пропорциональна скорости:

$$dF_{diss} = -c\eta \frac{\partial x}{\partial t} dz,$$

где $c\eta$ — коэффициент трения для единицы длины стержня, определяемый из гидродинамических соображений [38]:

$$c = \frac{4\pi}{0,5 + \ln(L/R)}. \quad (1)$$

Взаимодействие с тепловыми флуктуациями среды определяется случайной силой [34]:

$$dF_{st} = f(z, t) dz,$$

где $f(z, t)$ — линейная плотность силы, которая в приближении нулевого радиуса корреляции удовлетворяет соотношению

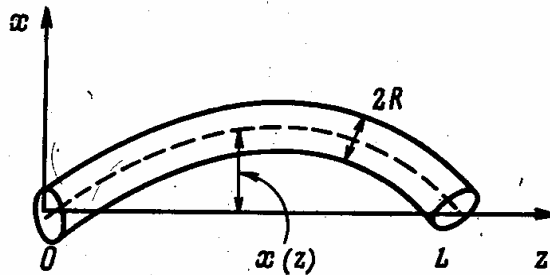
$$\langle f(z, t) f(z', t') \rangle = 2kTc\eta \delta(z - z') \delta(t - t'). \quad (2)$$

Уравнение движения для изгибных флуктуаций стержня получается приравниванием суммы действующих сил на элемент dz и инерциального члена $(\partial^2 x / \partial t^2) dm$, где элемент массы $dm = \pi R^2 \rho dz$ ($\rho \approx 1$ г/см³ — плотность стержня). Сокращая на величину dz , выпишем уравнение Ланжевена для рассматриваемого случая:

$$\pi R^2 \rho \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + c\eta \frac{\partial x}{\partial t} + \frac{\pi}{4} R^4 E \frac{\partial^4 x}{\partial z^4} = f(z, t). \quad (3)$$

Сравнение порядков величин, входящих в уравнение (3), показывает, что даже при минимально возможной вязкости среды $\eta \sim 10^{-2}$ Пз (вяз-

Рис. 2. Изгибные флуктуации стержня с шарнирно закрепленными (точнее, с «подпертыми» [32]) концами



кость воды) диссипативный член является доминирующим. Следовательно, при вычислении корреляционных функций координаты можно пренебречь инерциальным членом и перейти к более простому уравнению:

$$c\eta \frac{\partial x}{\partial t} + \frac{\pi}{4} R^4 E \frac{\partial^4 x}{\partial z^4} = f(z, t). \quad (4)$$

Уравнения (3) или (4) должны быть дополнены граничными условиями, задаваемыми в точках $z=0$ и $z=L$ и отражающими способ закрепления концов стержня. Как отмечалось выше, будем предполагать, что α -спиральные участки шарнирно сочленены друг с другом, что практически соответствует граничным условиям для «подпертого» с обоих концов стержня [32]:

$$\begin{cases} x(z, t) |_{z=0, L} = 0 \\ \frac{\partial^2 x(z, t)}{\partial z^2} |_{z=0, L} = 0 \end{cases} \quad (5)$$

Вид граничных условий сказывается в основном на форме решения $x(z, t)$ и существенно меньше — на временных характеристиках движения. Поэтому с поправкой на изменение формы решения $x(z, t)$ выводы, сделанные ниже, мало меняются при варьировании граничных условий.

Решение уравнений (3) и (4), удовлетворяющее граничным условиям (5), можно представить в виде разложения в ряд Фурье:

$$x(z, t) = \sum_{n=1}^{\infty} x_n(t) \sin \frac{\pi n z}{L}, \quad (6)$$

где

$$x_n(t) = \frac{2}{L} \int_0^L x(z, t) \sin \frac{\pi n z}{L} dz. \quad (7)$$

Представляя $f(z, t)$ также в виде ряда Фурье:

$$f(z, t) = \sum_{n=1}^{\infty} f_n(t) \sin \frac{\pi n z}{L} dz, \quad (8)$$

найдем, что $x_n(t)$ удовлетворяет уравнению

$$\pi R^2 \rho \ddot{x}_n + c \eta \dot{x}_n + \frac{\pi^5}{4} n^4 \left(\frac{R}{L} \right)^4 E x_n = f_n(t) \quad (9)$$

или (пренебрегая инерциальным членом)

$$c \eta \dot{x}_n + 2K_n x_n = f_n(t), \quad (10)$$

где мы ввели обозначение

$$K_n = \frac{\pi^5}{8} n^4 \left(\frac{R}{L} \right)^4 E. \quad (11)$$

Из формул (2), (8) и из факта ортогональности функций $\sin(\pi n z/L)$ следует, что фурье-компоненты плотности случайной силы удовлетворяют корреляционным соотношениям

$$\langle f_n(t) f_{n'}(t') \rangle = \frac{4}{L} kT c \eta \delta(t - t') \delta_{n,n'}. \quad (12)$$

Сравнивая выражения (9), (10) и (12), приходим к выводу о том, что решение $x(z, t)$ может быть представлено в виде суперпозиции нормальных мод, удовлетворяющих уравнениям Ланжевена для простых гармонических осцилляторов (рассмотренных выше) с массами $m = \pi R^2 \rho L/2$, коэффициентами трения $\gamma = c \eta L/2$ и константами жесткости $K_n = K_1 n^4$. Причем независимость фурье-компонентов $f_n(t)$ и $f_{n'}(t)$ при $n \neq n'$ делает случайные функции $x_n(t)$ и $x_{n'}(t)$ также независимыми:

$$\langle x_n(t) x_{n'}(t) \rangle = 0 \text{ при } n \neq n'. \quad (13)$$

Из уравнения (10) имеем:

$$\langle x_n(t) x_n(0) \rangle = \langle x_n^2 \rangle e^{-n^4 t / \tau}, \quad (14)$$

где средняя квадратичная амплитуда n -й моды

$$\langle x_n^2 \rangle = A^2 / n^4 = kT / K_n, \quad A^2 = \frac{8}{\pi^5} kT \frac{L^3}{R^4 E}. \quad (15)$$

τ — время релаксации первой моды:

$$\tau = \frac{4}{\pi^5} \left(\frac{L}{R} \right)^4 \frac{c \eta}{E}. \quad (16)$$

Пользуясь разложением (6), независимостью случайных функций x_n и $x_{n'}$ при $n \neq n'$ из формул (13) и (14) легко найдем корреляционную функцию:

$$\langle x(z, t) x(z', 0) \rangle = A^2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^4} e^{-n^4 t / \tau} \sin \frac{\pi n z}{L} \sin \frac{\pi n z'}{L}, \quad (17)$$

которая содержит в принципе всю необходимую информацию об изгибных флуктуациях стержня. Наличие в сумме (17) множителя $1/n^4$ обеспечивает быструю сходимость ряда; основной вклад в изгибные флуктуации стержня дает первая гармоника с временем релаксации τ , даваемым выражением (16). Влияние других гармоник с меньшими временами релаксации $\tau_n = \tau/n^4$ быстро убывает с увеличением номера n , что является следствием жесткости α -спирали.

При $t=0$ корреляционная функция (17) определяет вероятности реализации различных форм $x(z, t)$ принимаемых стержнем вследствие тепловых флуктуаций. Дифференцируя выражение (17), имеем:

$$\frac{\partial^4}{\partial z^4} \langle x(z, 0) x(z', 0) \rangle = \frac{\pi^4 A^2}{2L^3} [\delta(z - z') - \delta(z + z')]. \quad (18)$$

Затем, интегрируя равенство (18) 4 раза с учетом граничных условий (5), получим явную формулу для рассматриваемого коррелятора:

$$\langle x(z, 0) x(z', 0) \rangle = \frac{\pi^4}{12} A^2 \left\{ \frac{2zz'}{L^2} \left(1 - \frac{z}{L}\right) \left(1 - \frac{z'}{L}\right) - \frac{z(z-z')^2}{L^3} \left(1 - \frac{z'}{L}\right) + \frac{(z-z')^3}{L^3} \theta(z-z') \right\}, \quad (19)$$

где $\theta(z-z')$ — функция Хевисайда, равная 0 при $z < z'$ и 1 при $z > z'$.

Величина среднего квадратичного смещения в заданной точке определяется из формулы (19) при $z = z'$:

$$\langle x^2(z) \rangle = \frac{\pi^4}{6} A^2 \left(\frac{z}{L} \right)^2 \left(1 - \frac{z}{L} \right)^2 \quad (20)$$

и имеет максимальное значение при $z = L/2$:

$$\langle x^2(L/2) \rangle = \frac{\pi^4}{96} A^2 \approx 1,02 A^2,$$

которое практически совпадает с величиной A^2 .

Рассмотрим эволюцию системы из некоторого состояния $x_0(z)$, заданного в момент времени $t=0$. Согласно формулам (6)–(10), смещение произвольной точки стержня может быть представлено в виде суперпозиции независимых случайных функций $x_n(z)$. Для этих функций можно ввести плотности вероятности $P_n(x_n, t)$, удовлетворяющие уравнениям Фоккера — Планка:

$$\frac{\partial P_n(x_n, t)}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x_n} D \left\{ \frac{\partial}{\partial x_n} P_n + \frac{1}{kT} P_n \frac{\partial U_n(x_n)}{\partial x_n} \right\}, \quad (21)$$

где $D = 2kT/c\eta L$ — коэффициент диффузии для изгибных движений α -спирали, $U_n(x_n) = (1/2) K_n n^4 x_n^2$. Решение уравнения (21) с начальным условием

$$P_n(x_n, 0) = \delta(x_n - x_n^{(0)}) \quad (22)$$

имеет следующий вид [34]:

$$P_n(x_n, t; x_n^{(0)}) = \left[\frac{K_n}{2\pi kT (1 - e^{-2t/\tau_n})} \right]^{1/2} \cdot \exp \left\{ - \frac{K_n (x_n - x_n^{(0)} e^{-t/\tau_n})^2}{2kT (1 - e^{-2t/\tau_n})} \right\}; \quad \tau_n = \tau/n^4 \quad (23)$$

и описывает эволюцию осциллятора из неравновесного состояния $x_n = x_n^{(0)}$ к тепловому равновесию или к больцмановскому распределению по $U_n(x_n)$. Введем средние значения $\langle x_n(t) \rangle_0$ и $\langle x_n^2(t) \rangle_0$ для распределения (23). (Эти средние следует отличать от средних по ансамблю, обозначаемых выше как $\langle \dots \rangle$ и которые могут быть получены из средних типа $\langle \dots \rangle_0$ путем усреднения последних по равновесному распределению $x_n^{(0)}$). Интегрируя, получим

$$\langle x_n(t) \rangle_0 = x_n^{(0)} e^{-t/\tau_n}, \quad (24)$$

$$\langle x_n^2(t) \rangle_0 = \frac{kT}{K_n} (1 - e^{-2t/\tau_n}) + [x_n^{(0)}]^2 e^{-2t/\tau_n}. \quad (25)$$

Введем далее вспомогательную переменную:

$$\xi_n(z, z', t) = [x_n(t) - \langle x_n(t) \rangle_0] \left[\sin \frac{\pi n z}{L} - \sin \frac{\pi n z'}{L} \right], \quad (26)$$

для которой, согласно выражению (23), имеем очевидное распределение

$$P_n(\xi_n, t) = [2\pi \langle \xi_n^2(z, z', t) \rangle_0]^{-1/2} \exp \left\{ - \frac{\xi_n^2(z, z', t)}{2 \langle \xi_n^2(z, z', t) \rangle_0} \right\}. \quad (27)$$

Если в начальный момент времени $t=0$ стержень имел форму

$$x_0(z) = \sum_{n=1}^{\infty} x_n^{(0)} \sin \frac{\pi n z}{L},$$

то эволюция системы может быть описана парной функцией распределения для случайной величины

$$\delta x(z, z', t) = [x(z, t) - \langle x(z, t) \rangle_0] - [x(z', t) - \langle x(z', t) \rangle_0] = \sum_{n=1}^{\infty} \xi_n(z, z', t). \quad (28)$$

Пользуясь методом характеристических функций [34], найдем распределение для $\delta x(z, z', t)$:

$$P[x(z, t), x(z', t); x_0(z)] = [2\pi \langle [\delta x(z, z', t)]^2 \rangle_0]^{-1/2} \exp \left\{ -\frac{[\delta x(z, z', t)]^2}{2 \langle [\delta x(z, z', t)]^2 \rangle_0} \right\}. \quad (29)$$

Принимая во внимание независимость переменных $\xi_n(z, z', t)$, получим дисперсию распределения (29):

$$\langle [\delta x(z, z', t)]^2 \rangle_0 = A^2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^4} (1 - e^{-2n^4 t / \tau}) \left[\sin \frac{\pi n z}{L} - \sin \frac{\pi n z'}{L} \right]^2. \quad (30)$$

Распределение (29) при $z'=0$ (или L) определяет плотность вероятности нахождения поперечного смещения стержня, равного x в точке z в момент времени t , если при $t=0$ смещение составляло величину $x_0(z)$.

Парная функция распределения (29) определяет вероятность флуктуаций форм прогиба стержня. Рассматривая в выражении (30) близкие значения z и z' ($|z-z'| \ll L$), получим оценку дисперсии распределения:

$$\langle [\delta x(z, z', t)]^2 \rangle_0 \lesssim \frac{\pi^2 A^2}{L^2} (z - z')^2 \cos^2 \frac{\pi z}{L}.$$

При реальных значениях параметров $A^2 \ll L$ мы также приходим к выводу о том, что реализуемые формы прогиба α -спиралей и других относительно жестких элементов макромолекул вследствие тепловых флуктуаций должны быть весьма гладкими или не слишком сильно отклоняться от равновесной геометрии. То же следует ожидать и из быстрой сходимости ряда (17). Иными словами, в этой ситуации достаточно хорошим оказывается одномодовое приближение:

$$x(z, t) \approx x_1(t) \sin(\pi z/L). \quad (31)$$

В рамках одномодового приближения динамика изгибных флуктуаций α -спирали описывается уравнением Фоккера — Планка для осциллятора, и здесь с точностью до замены обозначений применимы результаты предыдущей работы [8] для описания электронно-конформационных взаимодействий в биомacroмолекулах. Различие заключается в масштабе движений, который сильно зависит от длины L .

На выбор параметра L влияют несколько обстоятельств. Во-первых, величина L , по-видимому, существенно не превышает длину относительно прямолинейных участков α -спирали. Во-вторых, если α -спирали прочно сшиты за счет образования химических связей между боковыми группами, то величина L определяется расстоянием между сшивками. (Заметим, что если сшивки не очень прочны, то их влияние может быть учтено в терминах коэффициента трения, явно зависящего от параметра z и имеющего резкие максимумы в точках сшивки.)

В предельном случае, полагая длину участка α -спирали $L \approx 50$ Å и $E \approx 10^{10}$ эрг/см³, получим для средней амплитуды тепловых флуктуаций $A \approx 5$ Å ($T=300$ К). Уменьшение величины L приводит к уменьшению параметра A пропорционально $L^{3/2}$. Время релаксации изгибных движе-

ний α -спирали при тех же значениях параметров оценивается формулой $\tau \approx 0,3 \cdot 10^{-7} \eta$ (с), где η берется в пузах. Согласно данным работ [9, 10, 19], микровязкость $\eta \approx 10^2$ П и время релаксации изгибных флуктуаций такой системы лежат в микросекундном диапазоне. При уменьшении длины величина τ быстро уменьшается по закону L^4 (см. формулу (16)).

ДИНАМИКА ОБРАЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Рассмотрим диффузию молекул субстрата в флуктуирующую щель. Само понятие «щель» предполагает существование относительно жестких структур, образующих края щели. В частности, это могут быть α -спиральные участки или стержневидные образования иной природы, к которым применимы результаты предыдущего параграфа. Способ сочленения краев сказывается практически лишь на возможной форме

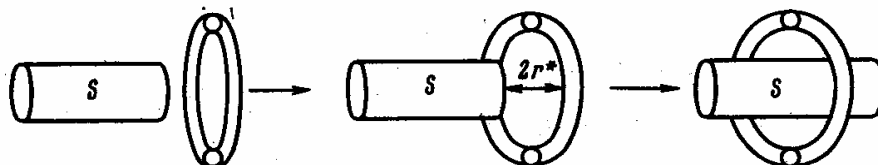


Рис. 3. Диффузия субстрата S в флуктуирующую щель

флуктуационного раскрытия щели. Мы рассмотрим вариант шарнирного сочленения (рис. 3). Динамика флуктуаций щели определяется случайной функцией:

$$\Delta x(z, t) = x_2(z, t) - x_1(z, t), \quad (32)$$

где $x_1(z, t)$ и $x_2(z, t)$ — смещения краев щели около положения равновесия. Случайные величины $x_{1,2}(z, t)$ распределены по гауссовому закону (29). Следовательно, их разность также распределена по аналогичному закону с дисперсией:

$$\langle [\delta \Delta x(z, t)]^2 \rangle_0 = \langle [\delta x_1(z, 0, t)]^2 \rangle_0 + \langle [\delta x_2(z, 0, t)]^2 \rangle_0.$$

Т. е. время релаксации щели совпадает с временем релаксации изгибных флуктуаций краев щели τ , даваемым выражением (16), а средняя квадратичная амплитуда флуктуаций ширины щели оказывается порядка $2A^2$ (формула (15)). Согласно полученным выше результатам, профиль флуктуаций не может резко отличаться от равновесной геометрии краев щели, и в одномодовом приближении состояние системы характеризуется расстоянием между центрами линий, образующих щель (рис. 3). Отклонение этого расстояния от равновесного значения обозначается ниже $2r$.

Очевидно, что акт диффузии молекулы субстрата в щель возможен лишь при условии достаточного раскрытия последней на некоторую величину $2r^*$. Среднее время такой флуктуации составляет, согласно принципу детального равновесия [35],

$$\tau^* = \tau e^{(r^*/A)^2} = \tau e^{E(r^*)/kT}, \quad (33)$$

где $E(r^*)$ — сумма энергий деформации краев щели при заданном раскрытии $2r^*$. Коэффициент диффузии D_s субстрата при раскрытии щели, превышающем $2r^*$, определяется микровязкостью в разрезе щели, зависящей от подвижности боковых групп и природы растворителя. Таким образом, проникновение субстрата в щель нельзя рассматривать как обычную диффузию в среде с заданным коэффициентом D_s . Здесь необходимо учитывать также флуктуации щели, приводящие к флуктуациям эффективного коэффициента диффузии субстрата.

Не меняя физического смысла, рассмотрим данную задачу в рамках дискретного приближения [8]. В соответствии с этим выделим открытое и закрытое состояния щели, обозначаемые индексами $j=1$ и $j=0$

соответственно. Средняя скорость раскрытия щели есть $\mu_1^* = 1/\tau$, а скорость релаксации щели — $\mu_1^* + \mu_1 = 1/\tau$, где μ_1 — скорость перехода $j=1 \Rightarrow j=0$ [36]. Состояние молекулы субстрата перед щелью обозначим $i=0$, а в щели — $i=1$. Средняя скорость перехода $i=0 \Rightarrow i=1$ при условии открытия щели может быть оценена как

$$v^* = \frac{2D_s(r^*)}{l^2}, \quad (34)$$

где l — глубина щели. При проникновении субстрата в щель происходит образование фермент-субстратного комплекса, и обратным переходом $i=1 \Rightarrow i=0$ можно пренебречь. Таким образом, рассматриваемая система имеет четыре состояния, описываемые вероятностями $P_{ij}(t)$, которые удовлетворяют системе уравнений

$$\frac{dP_{ij}}{dt} = \sum_{i',j'} K_{i'j'}^{ij} P_{i'j'}(t). \quad (35)$$

Элементы кинетической матрицы $\{K_{ij}^{i'j'}\}$ определены в соответствии с вышеизложенными соображениями: $K_{01}^{11} = v^*$; $K_{10}^{11} = \mu_1^*$; $K_{11}^{10} = \mu_1$. Остальные недиагональные элементы равны нулю либо в силу невозможности диффузии при закрытой щели, либо в силу крайне малой вероятности переходов с одновременным изменением индексов i и j . Диагональные матричные элементы могут быть определены из условия нормировки $\sum_{i,j} P_{ij}(t) = 1$ [36].

Анализ системы уравнений (35) показывает, что скорость проникновения субстрата в флуктуирующую щель или скорость образования фермент-субстратного комплекса в условиях субстратного насыщения определяется наименьшим (по модулю) собственным значением матрицы $\{K_{ij}^{i'j'}\}$:

$$k_s = \frac{1}{2}(v^* + \mu_1^* + \mu_1) - \frac{1}{2} \sqrt{(v^* + \mu_1^* + \mu_1)^2 - 4v^*\mu_1^*}. \quad (36)$$

При $(v^* + \mu_1^* + \mu_1) \gg 4v^*\mu_1^*$

$$k_s \approx \frac{v^*\mu_1^*}{v^* + \mu_1^* + \mu_1}. \quad (37)$$

Если время релаксации щели много меньше времени диффузии $1/v^*$, то $k_s \approx v^* e^{-E(r^*)/kT}$. В противоположном пределе $k_s \approx 1/\tau$.

Характерное время диффузии $1/v^*$ при значении микровязкости $\eta \approx 10^2$ Пз [9, 10], радиусе молекулы субстрата ~ 2 Å и глубине щели $l \sim 5$ Å составляет $\sim 10^{-6}$ с. Время релаксации щели τ при значениях модуля Юнга $E \approx 10^{10} \div 10^{11}$ эрг/см³ и длине щели $L \sim 7 \div 25$ Å лежит в диапазоне $10^{-6} \div 10^{-8}$ с. Таким образом, скорость образования комплекса оказывается весьма чувствительной к энергии критической деформации щели $E(r^*)$. Так как форма щели вследствие флуктуаций не может заметно отклоняться от равновесной, то проникновение субстрата с неподходящей геометрией требует существенно большего раскрытия щели, чем в случае геометрического соответствия. Иными словами, на стадии образования фермент-субстратного комплекса действует известный принцип структурного соответствия [25, 26], количественной мерой которого является критическая энергия деформации щели $E(r^*)$, соответствующей размеру и форме молекулы субстрата. При значении модуля Юнга $E \sim 10^{10}$ эрг/см³ и длине краев щели $L \sim 10$ Å средняя амплитуда тепловых флуктуаций ширины щели составит $\sim 0,7$ Å. Таким образом, флуктуации ширины щели на величину $\sim 0,5 \div 1$ Å не требуют больших энергий активации, но могут служить действенным фактором, регулирующим начальный этап фермент-субстратного взаимодействия. Известно, что субстрат с эффективным диаметром, более чем на 1 Å превышающим равновесное раскрытие щели или по форме заметно отли-

чающимся от последнего, имеет мало шансов продиффундировать внутрь фермента [25, 26]. При наличии структурного соответствия, не требующего больших деформаций щели, скорость проникновения субстрата и образование комплекса, согласно сделанным выше оценкам, составляет $\sim 10^5 \div 10^8 \text{ с}^{-1}$. Эти стадии, по-видимому, не являются лимитирующими для ферментативного процесса [2—4, 24—26], но они обеспечивают селективность уже на начальных этапах образования фермент-субстратного комплекса.

Заметим, что десорбция продуктов реакции может быть рассмотрена аналогичным образом. Скорость десорбции также определяется формулой (37), с той лишь разницей, что под $1/v^*$ нужно понимать характерное время выхода продукта из раскрытой щели. Если энергия связывания продукта не слишком велика (меньше энергии активации микровязкости белка [9, 10]), то распад комплекса фермента с продуктом также не будет лимитировать скорость реакции.

ЭЛЕКТРОННО-КОНФОРМАЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Рассмотрим акт ферментативного катализа с позиций конформационной динамики белка, моделируя электронно-конформационные взаимодействия резкой зависимостью скорости реакции от конфигурации групп активного центра и субстрата [8]. Отличие от результатов работы [8] состоит здесь в многомерности конфигурационного пространства. Это принципиально в случае ферментов, так как, согласно имеющимся представлениям, акт катализа требует кооперативности химических взаимодействий [25, 26, 28, 37] или образования определенной цепи перераспределения связей [24]. Иными словами, акт ферментативного катализа возможен лишь при строго определенной ориентации нескольких групп, достигаемой за счет конформационных движений. В растворах аналогичное одновременное соударение нескольких молекул крайне маловероятно. Однако в белке область конформационных движений отдельных групп снижается до нескольких $\text{\AA}^3$ [8—11, 19—22], и механизмы реакций, практически нереализуемые, в растворе могут становиться преобладающими и высокоселективными (рис. 4).

Следуя общему методу [8], напомним многомерное уравнение Фоккера — Планка, связывающее скорость ферментативного акта с динамикой фермент-субстратного комплекса:

$$\frac{\partial P(x_1, \dots, x_N; t)}{\partial t} = \sum_{i=1}^N \frac{\partial}{\partial x_i} D_i \left\{ \frac{\partial P(x_1, \dots, x_N; t)}{\partial x_i} + \right. \\ \left. + \frac{1}{kT} P(x_1, \dots, x_N; t) \frac{\partial U(x_1, \dots, x_N)}{\partial x_i} \right\} - W(x_1, \dots, x_N) P(x_1, \dots, x_N; t). \quad (38)$$

Здесь x_i — N независимых обобщенных конформационных координат групп активного центра и субстрата, выбор которых диктуется конкретной структурой комплекса; $P(x_1, \dots, x_N; t)$ — плотность вероятности

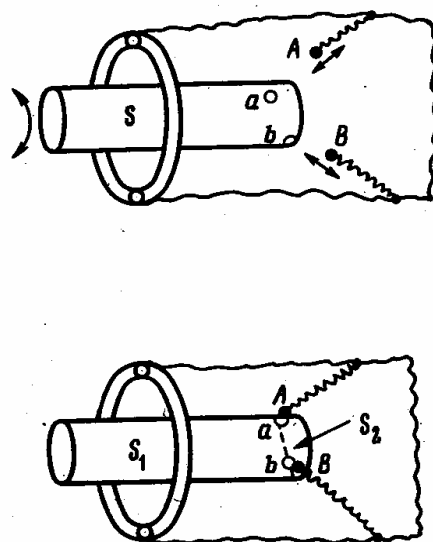


Рис. 4. Схема подстройки групп активного центра (A и B) и субстрата S в реакционноспособную конфигурацию. Необходимым условием расщепления субстрата S на S_1 и S_2 является контакт групп A и a, B и b соответственно

для непрореагировавшего комплекса в данной конфигурации; D_i — коэффициент конформационной диффузии для i -й степени свободы; $U(x_1, \dots, x_N)$ — конформационный потенциал. Химическая специфика процесса содержится в зависимости скорости превращения фермент-субстратного комплекса в продукты от конформационных координат — $W(x_1, \dots, x_N)$.

Подчеркнем, что уравнение (38) описывает спонтанную электронно-конформационную релаксацию фермент-субстратного комплекса и в этом смысле конкретизирует релаксационную концепцию ферментативного катализа [4].

Согласно принципу Франка — Кондона, реакционно-способное состояние в активном центре должно иметь конфигурацию, соответствующую пересечению электронных термов реагентов и продуктов реакции [6, 38, 39], что достигается при оптимальных расстояниях и ориентациях между соответствующими группами. Исходя из общих представлений об электронно-колебательном взаимодействии в химических реакциях [2, 6, 8, 11, 38, 39], можно заключить, что при изменении этих расстояний и ориентаций или при отклонении i -й конформационной координаты некоторой активной группы от оптимального значения

x_i^0 скорость реакции убывает, как $e^{-(x_i - x_i^0)^2/a^2}$, где $a \sim 0,05 \div 0,1$ А — амплитуда валентных колебаний вдоль соответствующей связи (рис. 5). Таким образом, функция $W(x_1, \dots, x_N)$ может быть аппроксимирована следующим образом:

$$W(x_1, \dots, x_N) \approx W_0 e^{-\rho^2/a^2}, \quad (39)$$

где

$$\rho^2 = \sum_{i=1}^N (x_i - x_i^0)^2. \quad (40)$$

Не меняя физического смысла задачи, в целях упрощения математических выкладок воспользуемся более грубым приближением:

$$W(\rho) = \begin{cases} W_0; & \rho \leq a \\ 0; & \rho > a \end{cases} \quad (41)$$

Т. е. будем считать, что акт катализа идет со скоростью W_0 только тогда, когда система, блуждая в N -мерном конфигурационном пространстве, попадет в a -окрестность точки $(x_1^0, \dots, x_N^0)$.

Интересуясь только основными физическими эффектами и не имея информации о тонких деталях конформационного потенциала и различиях в коэффициентах диффузии D_i , примем, что потенциал $U(x_1, \dots, x_N)$ представляет собой гипersферический потенциальный ящик радиуса ρ_0 с отражающими стенками и центром $\rho=0$, а коэффициенты диффузии одинаковы для всех степеней свободы: $D_i=D$. В этом случае в уравнении (38) имеет смысл перейти к N -мерным полярным координатам [40], причем анализ ситуации показывает, что при вычислении скорости реакции можно ограничиться изучением лишь радиальной части плотности вероятности: $P(\rho, t)$, для которой имеем уравнение

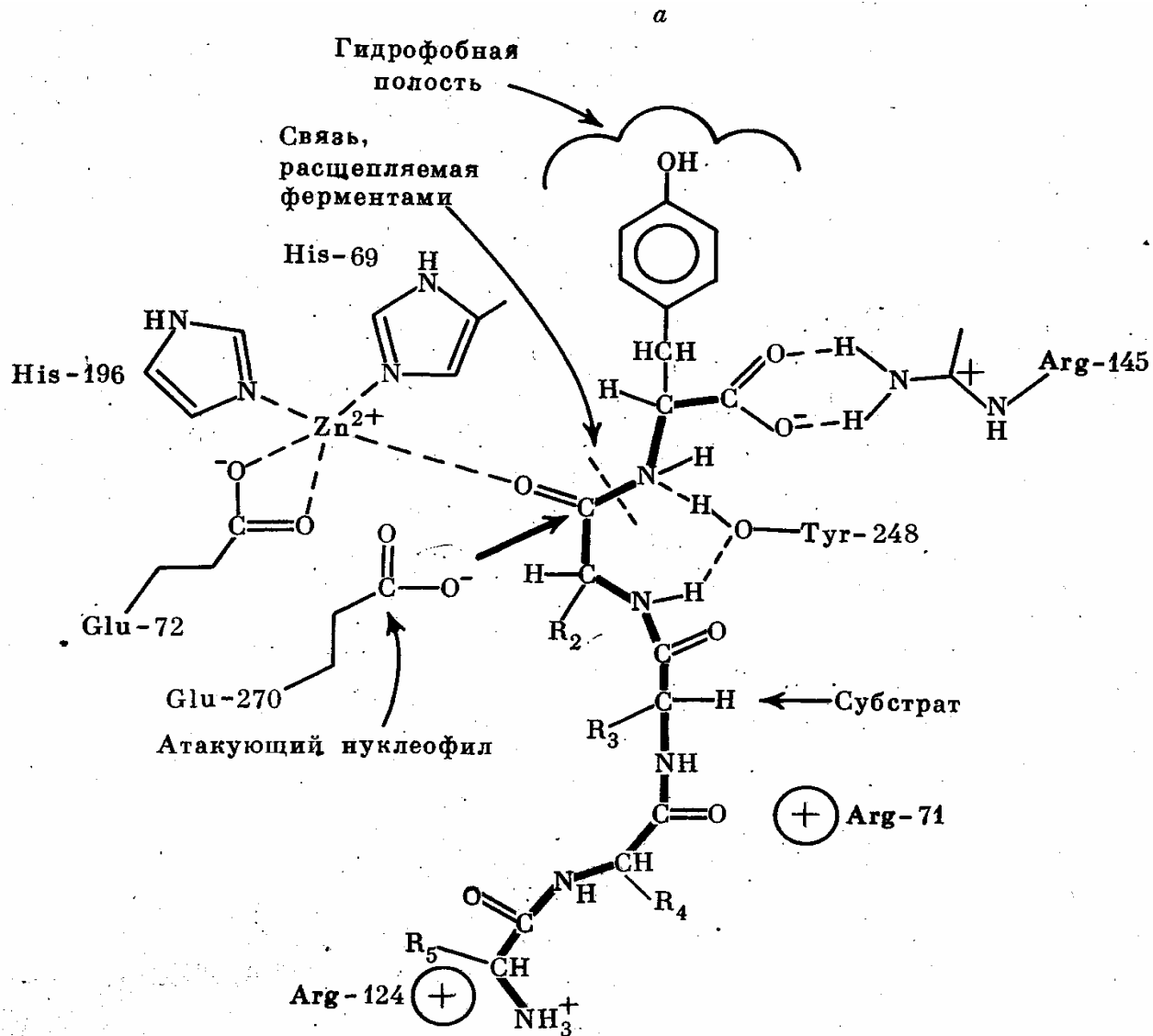
$$\frac{\partial P(\rho, t)}{\partial t} = D \left\{ \frac{\partial^2 P(\rho, t)}{\partial \rho^2} + \frac{N-1}{\rho} \frac{\partial P(\rho, t)}{\partial \rho} \right\} - W(\rho) P(\rho, t). \quad (42)$$

Конформационный потенциал входит в задачу через условие отражения:

$$\left. \frac{\partial P(\rho, t)}{\partial \rho} \right|_{\rho=\rho_0} = 0. \quad (43)$$

Решение (42) ищем в виде $P(\rho, t) \sim P_n(\rho) e^{-D\lambda_n^2 t}$, где $P_n(\rho)$ и λ_n^2 удовлетворяют уравнению

$$\frac{\partial^2 P_n}{\partial \rho^2} + \frac{N-1}{\rho} \frac{\partial P_n}{\partial \rho} + (\lambda_n^2 - W(\rho)/D) P_n = 0. \quad (44)$$



б

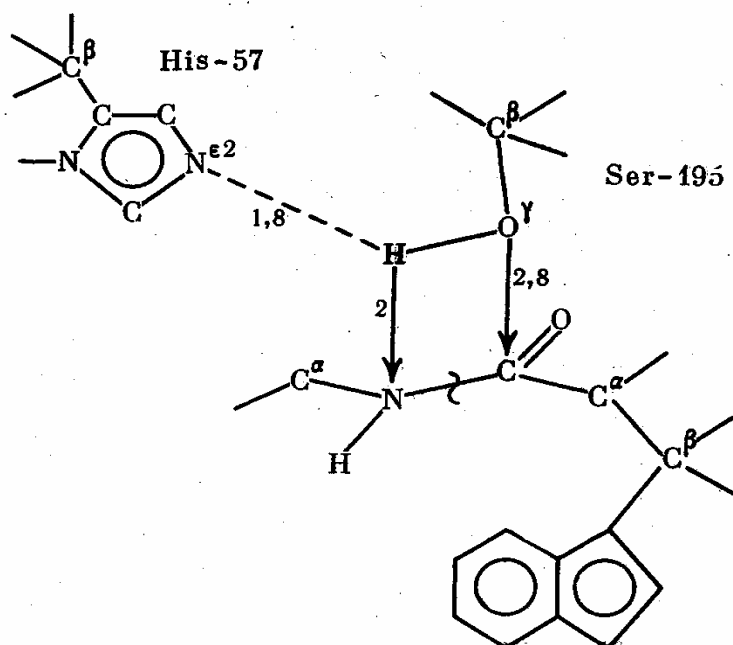


Рис. 5. Пример образования активной конфигурации или цепи перераспределения связей в случае гидролиза пептидной связи: карбоксипептидазой А [3, 47] (а) и α -химотрипсином (б). Цифрами обозначены равновесные межатомные расстояния в невалентном фермент-субстратном комплексе [28]

Очевидно, что скорость реакции определяется минимальным собственным значением λ_1^2 .

Решение уравнения [44] выражается через функции Бесселя [41]. При $\rho > a$

$$P_n(\rho) \sim \rho^{1-N/2} [I_{\frac{N}{2}-1}(\lambda_n \rho) + \alpha_n Y_{\frac{N}{2}-1}(\lambda_n \rho)]. \quad (45)$$

При $0 \leq \rho \leq a$

$$P_n(\rho) = \beta_n \rho^{1-N/2} I_{\frac{N}{2}-1} \left(\rho \sqrt{\frac{W_0}{D} - \lambda_n^2} \right). \quad (46)$$

Коэффициенты α_n , β_n и собственные значения λ_n^2 определяются из граничного условия (43) и сшивки $P_n(\rho)$ и $\partial P_n(\rho)/\partial \rho$ на границе области $\rho = a$.

В практически интересном случае $a \ll \rho_0$ оценки показывают, что справедливо неравенство $\lambda_1 \rho_0 \ll 1$, и в выражении (45) можно воспользоваться асимптотиками функций Бесселя [41]. В результате при $N \geq 3$ получим для λ_1^2 уравнение

$$\lambda_1^2 \approx \frac{1}{\rho_0^2} \left(\frac{a}{\rho_0} \right)^{N-2} N(N-2) \left[2 \frac{I'_{\frac{N}{2}-1} \left(a \sqrt{\frac{W_0}{D} - \lambda_1^2} \right)}{I_{\frac{N}{2}-2} \left(a \sqrt{\frac{W_0}{D} - \lambda_1^2} \right)} - 1 \right]. \quad (47)$$

Напомним, что N — число независимых конформационных степеней свободы, непосредственно участвующих в акте многоцентрового химического взаимодействия в активном центре. Если среднее время химического акта $1/W_0$ в активной конфигурации значительно больше времени нахождения системы в области $\rho \leq a$, то скорость распада фермент-субстратного комплекса, согласно равенству (47), оказывается пропорциональной скорости W_0 и статистическому весу активной конфигурации:

$$k_E = \lambda_1^2 D \approx W_0 \left(\frac{a}{\rho_0} \right)^N; \quad W_0 \frac{a^2}{D} \ll 1. \quad (48)$$

Этот результат следовало ожидать и из теории активированного комплекса, если под величиной $k \ln(a/\rho_0)^N$ понимать энтропию активации. Однако представляется маловероятным, чтобы столь редкое событие, как образование активной конфигурации в тщательно отобранной структуре фермент-субстратного комплекса не приводило бы к акту катализа. Подтверждением этого являются прямые экспериментальные данные о влиянии внутренней динамики белка, регулируемой вязкостью растворителя η , на скорость превращения комплекса в случае карбоксипептидазы А [29, 31]. Эти результаты показывают, что лимитирующим фактором здесь является конформационная подвижность комплекса или, иными словами, скорость W_0 много больше скорости конформационной релаксации отдельных групп, входящих в состав активной конфигурации. В этом случае время распада комплекса определяется средним временем образования этой конфигурации или, согласно выражению (47),

$$k_E \approx \frac{D}{\rho_0^2} \left(\frac{a}{\rho_0} \right)^{N-2} N(N-2) \quad \text{при} \quad \frac{W_0 a^2}{D} \gg 1. \quad (49)$$

Формула (49) справедлива при $N \geq 3$. При $N=2$ необходимо считаться с логарифмической расходимостью $Y_0(\lambda_1 \rho)$ при $\lambda_1 \rho \ll 1$, в этом случае

$$k_E \approx \frac{2D}{\rho_0^2 \ln(\rho_0/a)}. \quad (50)$$

Заметим, что при диффузии в одномерной яме длиной $2\rho_0$ с поглощающей точкой в центре мы получили бы $k_E \approx (\pi^2/4) (D/\rho_0^2)$.

Согласно данным мёссбауэровской спектроскопии [9, 10, 17—20], полная амплитуда локальных конформационных движений белковых групп при комнатной температуре $\rho_0 \sim 1$ Å, а величина коэффициента диффузии $D \sim 10^{-9}$ см²/с [10]. Следовательно, D/ρ_0^2 или обратное время конформационной релаксации порядка 10^7 с⁻¹ или $k_E \approx 10^7 \cdot N(N-2) \times \chi (a/\rho_0)^{N-2}$ с⁻¹.

Число независимых конформационных степеней свободы N , участвующих в образовании активной конфигурации, может быть определено из химического механизма реакции. Так, например, в случае гидролиза пептидной связи необходимо создать благоприятную ориентацию для двух групп активного центра относительно определенных участков субстрата (рис. 4, 5); каждая группа вносит в величину N вклад, равный 3. Кроме того, возможны либрации молекулы субстрата, и величина $N \approx 6 \div 7$. Таким образом, в рамках данной модели скорость превращения фермент-субстратного комплекса $k_E \approx 10^2 \div 10^4$ с⁻¹.

Сравним скорость ферментативной реакции с возможной скоростью аналогичной реакции в растворе. Даже при очень больших концентрациях реагентов (~ 1 М) эффективная величина ρ_0 составит ~ 10 Å. Увеличение ρ_0 отчасти компенсируется увеличением коэффициента диффузии: для маловязких растворителей $D \sim 10^{-5} \div 10^{-6}$ см²/с. Однако даже в этом предельном случае формула (49) показывает, что скорость ферментативной реакции за счет структурно-динамической организации активного центра как минимум на пять порядков превосходит скорость аналогичной реакции в растворе.

Проведенные выше оценки хорошо коррелируют с обратными временами оборота ферментов в условиях субстратного насыщения [2, 4, 24—26]. Более того, формула (49) связывает скорость ферментативной реакции с характерными временами внутренней динамики белка и с конформационными возможностями фермент-субстратного комплекса. Согласно имеющимся данным, времена релаксации конформационных движений пропорциональны вязкости растворителя ($D \sim 1/\eta_s$) [20—22]. Поэтому следует ожидать, что увеличение вязкости растворителя приведет к пропорциональному уменьшению скорости k_E , как это и наблюдалось недавно [29, 31].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблемы связи структурно-динамической организации и функциональной активности белков чрезвычайно сложны и многогранны. И хотя интенсивные экспериментальные исследования в этой области начались сравнительно недавно, накопленный материал требует осмысления с точки зрения теоретической биофизики. При этом очевидная сложность биологических систем не должна заслонять единых физических принципов, которые используются в конкретных ситуациях.

Структурная иерархия в биомакромолекулах, наличие столь различных по своим механическим свойствам элементов, как, например, α - или β -участки и боковые группы, неизбежно приводят к иерархии времен релаксации и к определенной структурно-динамической организации биомакромолекул. Очевидно, что образование столь уникальных и сложных конфигураций, обладающих флуктуационной упорядоченностью, должно играть существенную роль в механизмах функционирования белков. Поэтому идея об электронно-конформационных взаимодействиях или связи конформационной динамики и активности белка является весьма плодотворной [1]. Вопрос состоит в конкретизации этой идеи в биологических системах, и его решение связано с двумя большими проблемами. Первая заключается в построении теории собственно химической стадии процессов и относится к общим проблемам квантовой химии и теории элементарного акта реакций в конденсированных средах. Вторая проблема состоит в выяснении роли структурно-динамической организации белка на различных этапах функционирования биомакромолекул. Это деление в известной степени условно, но, к счастью, может

быть выполнено достаточно надежно, ввиду большого различия времен конформационной и колебательной релаксации [8]. Поэтому электронно-конформационные взаимодействия на первом этапе взаимодействия фермент — субстрат могут рассматриваться и без решения проблемы непосредственно элементарного акта катализа в активном центре. Действительно, во многих случаях собственно элементарный акт химической реакции не является лимитирующим фактором, хотя его значение в других аспектах трудно переоценить [3]. Образование фермент-субстратного комплекса естественно уподобить акту диффузии в сильно структурированной среде. Здесь велика роль флуктуаций щели на поверхности фермента, которая была исследована выше. Форма, размеры и динамика раскрытия щели, по-видимому, определяют на первом этапе селективность процесса, но не лимитируют общей скорости ферментативной реакции. Характерное время образования комплекса может быть вычислено по формулам (33) — (37), которые описывают сопряжение диффузии субстрата в белке с флуктуациями щели. По физическому смыслу эта ситуация близка к движению частицы через активационный барьер в вязкой среде, рассмотренной ранее Крамерсом [42], и может быть также применена к интерпретации зависимости скорости диффузии лигандов в белках от вязкости растворителя [21, 22, 29, 31].

Для обеспечения акта катализа на следующем этапе в активном центре требуется образование реакционноспособной конфигурации (конформации) функциональных групп субстрата и фермента. В рамках относительно простой модели гиперсферического потенциального ящика с активной зоной удастся найти характерное время образования нужной конформации. Иными словами, удастся найти связь между временами корреляции конформационных движений функциональных групп в зоне активного центра и скоростью ферментативной реакции. Использование динамических параметров, полученных независимым образом, дает в нашей модели правильный порядок скорости реакции. Результирующая формула (49) показывает, что скорость реакции зависит от коэффициента конформационной диффузии D (или микровязкости белка) и амплитуды конформационных движений групп активного центра (ρ_0). Увеличение размерности конфигурационного пространства N , зависящего от числа функциональных групп и необходимых одновременных контактов между ними, приводит к увеличению времени оборота ферментов. Однако эти дополнительные стерические ограничения, по-видимому, намного перекрываются выигрышем в высокой скорости и направленном характере химических превращений в такого рода многоцентровых активных конфигурациях [37], приводящих к образованию цепи переноса заряда или перераспределения связей [24—26, 28, 43].

Мы рассмотрели ферментативный акт исключительно с точки зрения динамики белка. Здесь существенным является сделанный нами ранее вывод [8] о необходимости проведения четкого различия при описании динамических (т. е. внутримолекулярных) и стохастических (т. е. конформационных) степеней свободы. Общие идеи о важной роли конформационной подвижности активного центра и сближенности функциональных групп в фермент-субстратном комплексе давно обсуждаются в литературе [2—4, 24, 26, 28, 29, 43—45]. При этом в конечном счете используются представления теории активированного комплекса [46, 47]. Однако в рамках этой теории не делается различий между конформационными и внутримолекулярными степенями свободы. Крамерс показал [42], что основная формула для константы скорости химической реакции в теории переходного состояния

$$k_r \sim \frac{kT}{h} e^{\Delta S^\ddagger/k} e^{-E^\ddagger/kT} \quad (51)$$

справедлива только при пренебрежении стохастическими степенями свободы. Поэтому применение формулы (51) к превращению фермент-субстратного комплекса ограничено лишь собственно химической стадией, описываемой константой скорости W_0 (см. формулу (41)). Сле-

довательно, под величинами ΔS^* и E^* в этом случае нужно понимать энтропию и энергию активации в уже образованной благоприятной конформации комплекса. Таким образом, распространение теории переходного состояния на акт ферментативного катализа в целом не оправдано и приводит к потере информации о конформационной динамике белка. Полученная нами формула (47) определяет наблюдаемую скорость превращения фермент-субстратного комплекса с учетом стохастической динамики конформационных движений групп активного центра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М. В. Изв. АН СССР, сер. биол., 1971, № 6, 805—812.
2. Волькенштейн М. В. Биофизика. М.: Наука, 1981.
3. Волькенштейн М. В. Мол. биол., 1982, 16, 901—929.
4. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977.
5. Чернавская Н. М., Чернавский Д. С. Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе. М.: Изд-во МГУ, 1977.
6. Dogonadze R. R., Kuznetsov A. M., Ulstrup J. J. Theor. Biol., 1977, 69, 239—263.
7. Rubín A. V. Photochem. Photobiol., 1978, 28, 1021—1028.
8. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1982, 16, 1004—1018.
9. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1980, 14, 1323—1335.
10. Шайтан К. В. Вестн. Моск. ун-та, сер. 3, физика, астрономия, 1982, 23, 15—20.
11. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1981, 15, 368—385.
12. Чернавский Д. С., Хургин Ю. И., Шноль С. Э. Мол. биол., 1967, 1, 419—424.
13. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. М.: Мир, 1982.
14. Barkley M. D., Zimm B. H. J. Chem. Phys., 1979, 70, 2991—3007.
15. Berg O. G. Biopolymers, 1979, 18, 2861—2874.
16. Frank-Kamenetskii M. D. Comments Mol. Cell. Biophysics, 1981, 1, 105—114.
17. Frauenfelder H., Petsko G. A., Tsernoglou D. Nature, 1979, 280, 558—565.
18. Берг А. И., Нокс А. А., Кононенко А. А. и др. Мол. биол., 1979, 13, 81—88.
19. Крупнянский Ю. Ф., Шайтан К. В., Гаубман Е. Э. и др. Биофизика, 1981, 26, 1037—1044.
20. Гольданский В. И., Крупнянский Ю. Ф., Фролов Е. Н. Мол. биол., 1983, 17, 532—542.
21. Beece D., Eisenstein L., Frauenfelder H. et al. Biochemistry, 1980, 19, 5148—5157.
22. Beece D., Bowne S. F., Czégé J. et al. Photochem. Photobiol., 1981, 33, 517—522.
23. Демченко А. П. Укр. биохим., 1981, 53, 114—128.
24. Полтораки О. М., Чухрай Е. С. Физико-химические основы ферментативного катализа. М.: Высшая школа, 1971.
25. Березин И. В., Варфоломеев С. Д. Биокинетика. М.: Наука, 1979.
26. Березин И. В., Мартинек К. Основа физической химии ферментативного катализа. М.: Высшая школа, 1977.
27. Волькенштейн М. В., Голованов И. Б., Соболев В. Н. Молекулярные орбитали. М.: Наука, 1982.
28. Попов Е. М. Мол. биол., 1977, 11, 5—41.
29. Welch G. R., Somogyi B., Damjanovich S. Progr. Biophys. Mol. Biol., 1982, 39, 109—146.
30. Краковяк М. Г., Ануфриева Е. В., Волькенштейн М. В. и др. Докл. АН СССР, 1975, 224, 873—876.
31. Gavish B., Werber M. M. Biochemistry, 1979, 18, 1269—1275.
32. Рэлей Дж. В. Теория звука. М.: ГИТТЛ, 1955, т. 1.
33. Хаппель Дж., Бреннер Г. Гидродинамика при малых числах Рейнольдса. М.: Мир, 1976.
34. Чандрасекар С. Стохастические проблемы в физике и астрономии. М.: Изд-во иностр. лит., 1947.
35. Ландау Л. Д., Лифшиц Е. М. Статистическая физика. М.: Наука, 1964.
36. Рытов С. М. Случайные процессы. М.: Наука, 1976.
37. Беккер Г. Введение в электронную теорию органических реакций. М.: Мир, 1965.
38. Догонадзе Р. Р., Кузнецов А. М. Кинетика химических реакций в полярных растворителях. М.: ВИНТИ, 1973.
39. Толмачев В. В. Квазиклассическая теория модельной химической реакции. М.: Изд-во МГУ, 1981.
40. Маделунг Э. Математический аппарат физики. М.: Наука, 1968, гл. 8.
41. Янке Е., Эмде Ф., Лёш Ф. Специальные функции. М.: Наука, 1968, гл. 13.
42. Kramers H. A. Physica, 1940, 7, 284—295.
43. Blow D. M. Enzymes, 1971, 3, 185—212.
44. Koshland D. E. J. Theoret. Biol., 1962, 2, 75—86.
45. Ivanov V. I., Karpeisky M. Ya. Advan. Enzym., 1969, 32, 22—54.
46. Глестон С., Лейдлер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций. М.: Изд-во иностр. лит., 1948.
47. Мецлер Д. Биохимия. М.: Мир, 1980, т. 2.

Поступила в редакцию
24.1.1983

BENDING FLUCTUATIONS OF α -HELICES AND DYNAMICS OF ENZYME-SUBSTRATE INTERACTIONS

K. V. SHAITAN, A. B. RUBIN

M. V. Lomonosov Moscow State University

A stochastic model is developed for the dynamic behavior of proteins containing relatively rigid structural components. The paper considers the fluctuations of a gap between the rigid components and the dynamics of substrate — gap interactions associated with the formation of the enzyme-substrate complex. Electron-conformation interactions in the physical situation being considered are described by a model involving multiple diffusion movements within the configurational space having an absorption area. It has been shown that the limiting stage of catalysis ($\tau \sim 10^{-2} - 10^{-4}$ s) is a specific structural configuration of the active center groups and substrate, formed during conformational motions, through which effective multi-center chemical interactions are made possible.