

КИНЕТИКА КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ В БЕЛКАХ

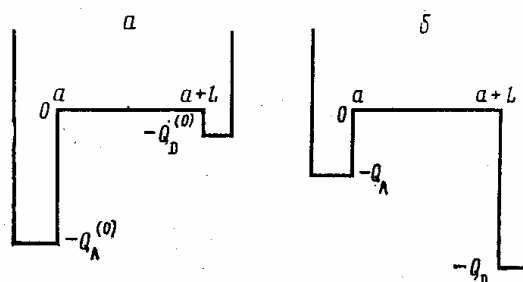
ШАЙТАН К. В., РУБИН А. Б., ЧЕРНАВСКИЙ Д. С.

Обсуждаются вопросы конформационной динамики белков. Выведены формулы для скорости перехода системы из одного локального минимума конформационного потенциала в другой — по механизму ограниченной диффузии.

В последнее время интенсивно обсуждается физика конформационной динамики биомакромолекул и ее связь с функциональной активностью белков [1—7]. Основы этого направления в теоретической биофизике были заложены около 15 лет назад и нашли свое концентрированное выражение в концепциях «белок-машина» [8, 9] и электронно-конформационного взаимодействия (ЭКВ) [1, 4, 5—7]. Анализ экспериментальных данных по динамике белка и особенно результатов, полученных методами мессбауэровской спектроскопии [2], спиновых меток [10] и ЯМР [11] позволяет представить конформационную динамику как ограниченную диффузию фрагментов и групп биомакромолекул относительно друг друга [6, 7, 12, 13] или как конформационный (фазовый) переход [14]. Амплитуды конформационных флуктуаций лежат в диапазоне 0,3—5 Å, а времена корреляции сильно зависят от амплитуд движения [7] и находятся в диапазоне десятков наносекунд и выше [2, 3, 10—12]. Механизм сопряжения динамики белка с электронным транспортом и ферментативным катализом рассмотрен в работах [1, 4—7, 15, 16].

Согласно имеющимся представлениям [4, 5, 14], биомакромолекулы могут обладать несколькими (в простейшем случае двумя) наиболее выгодными конформациями (рисунок, а), отделенными друг от друга относительно протяженным барьером, отвечающим переходным конформационным подсостояниям. Изменение химического (зарядового) состояния групп белка может сопровождаться изменением свободных энергий конформаций и соответствующим конформационным (фазовым [14]) переходом (рисунок, б). В результате изменения относительных энергий конформаций А и D происходит запасание энергии химической реакции, а в результате последующего конформационного перехода может быть совершена полезная работа: $\Delta Q = Q_D - Q_A$, где $(-Q_A)$ и $(-Q_D)$ энергии метастабильного и стабильного состояний соответственно (см. рисунок, б).

Кинетика конформационных переходов рассматривалась ранее в двух предельных случаях [1, 5, 13, 16]. Во-первых, когда число конформационных подсостояний мало (узкий барьер) при этом использовалось известное в теории абсолютных скоростей выражение для времени перехода $\tau = (h/kT) \exp(\Delta F^*/kT)$ (в рассматриваемом случае $\Delta F^* \approx Q_A$). Во-вторых, в случае, когда число конформационных подсостояний велико (широкий барьер), а величина Q_A мала ($Q_A \sim kT$) [13]. Ситуация, в которой величина Q_A не мала и в то же время барьер достаточно протяженный, детально не исследовалась. С нашей точки зрения именно эта ситуация представляет наибольший интерес для кинетики конформационных переходов.



Профили конформационной энергии: а—до и б—после химического превращения белковой группы. Вследствие этого превращения происходит инверсия уровней энергии для конформаций А и D и последующий конформационный переход

Пусть в момент времени $t=0$ в результате химической реакции произошло резкое изменение энергий конформационных состояний А и D. Будем полагать, что в начальном состоянии $Q_A^{(0)} \gg Q_D^{(0)}$ и система почти целиком находилась в конформации А. В конечном состоянии (т. е. после химической реакции) пусть $Q_D \gg Q_A$ и система должна почти целиком перейти в конформацию D. Введем $P(x, t)$ — плотность вероятности нахождения системы в момент времени t в конформации, соответствующей обобщенной координате x . Динамика конформационного перехода описывается уравнением Фоккера — Планка [6, 7, 13, 17, 18]:

$$\partial P(x, t) / \partial t = -\partial j(x, t) / \partial x, \quad (1)$$

где

$$j(x, t) = -D \left[\frac{\partial P(x, t)}{\partial x} + \frac{1}{kT} P(x, t) \frac{\partial U(x)}{\partial x} \right] \quad (2)$$

поток плотности вероятности в точке x в момент времени t .

Здесь потенциал $U(x)$ разрывная функция (см. рисунок), так, что

$$U(x) = \begin{cases} -Q_A; & 0 < x < a \\ 0; & x > a. \end{cases}$$

В качестве граничных условий нужно взять условие отражения частиц при $x=0$ и, считая процесс перехода необратимым, условие поглощения при $x=L+a$ (рисунок, б):

$$j(0, t) = 0; \quad P(L+a, t) = 0. \quad (3)$$

Начальным условием является распределение

$$P(x, 0) = \begin{cases} 1/a; & 0 < x < a \\ 0; & x > a \end{cases} \quad (4)$$

При решении уравнения (1) необходимо учитывать, что поток $j(x, t)$ по физическому смыслу является непрерывной функцией x , а плотность вероятности $P(x, t)$ может иметь разрывы только первого рода. Поэтому решение (1) будем искать в виде

$$P(x, t) = \psi(x, t) \exp(-U(x)/kT), \quad (5)$$

где $\psi(x, t)$ — непрерывная функция x . Поток $j(x, t)$ связан с $\psi(x, t)$ следующим образом:

$$j(x, t) = -D \exp(-U(x)/kT) \partial \psi(x, t) / \partial x. \quad (6)$$

Из требования непрерывности потока получаем условие сшивки $\psi(x, t)$ в точке скачка потенциала $U(x)$:

$$\left. \frac{\partial \psi}{\partial x} \right|_{x=a-0} = \exp(-Q_A/kT) \left. \frac{\partial \psi}{\partial x} \right|_{x=a+0} \quad (7)$$

Из непрерывности $\psi(x, t)$ имеем второе условие сшивки решения:

$$\psi(a-0, t) = \psi(a+0, t). \quad (8)$$

С учетом (5) уравнение (1) можно переписать в виде

$$\frac{\partial \psi(x, t)}{\partial t} = D \left\{ \frac{\partial^2 \psi(x, t)}{\partial x^2} - \frac{Q_A}{kT} \delta(x-a) \frac{\partial \psi(x, t)}{\partial x} \right\}. \quad (9)$$

Решение ищем обычным образом:

$$\psi(x, t) = \sum_{n=0}^{\infty} \varphi_n(x) \exp(-t/\tau_n), \quad (10)$$

где $\varphi_n(x)$ удовлетворяют уравнению

$$\varphi_n'' - (Q_A/kT) \delta(x-a) \varphi_n' + \lambda_n^2 \varphi_n = 0. \quad (11)$$

Времена τ_n связаны с собственными значениями λ_n^2 соотношением

$$1/\tau_n = D\lambda_n^2 \quad (12)$$

Согласно граничным условиям (3) представим функции $\varphi_n(x)$ в виде:

$$\varphi_n(x) = \begin{cases} A_n \cos \lambda_n x; & 0 < x < a \\ B_n \sin \lambda_n (L + a - x); & x > a. \end{cases} \quad (13)$$

Из непрерывности $\psi(x, t)$ следует, что

$$B_n = A_n \cos \lambda_n a / \sin \lambda_n L. \quad (14)$$

Из условия сшивки производной (7) и соотношения (14) получаем уравнение для определения собственных значений λ_n :

$$\operatorname{tg} \lambda_n a \cdot \operatorname{tg} \lambda_n L = \exp(-Q_A/kT) \quad (15)$$

Значения λ_n могут быть определены, если воспользоваться известными асимптотиками функции $\operatorname{tg} z$:

$$\operatorname{tg} z \sim \begin{cases} z - \pi n; & |z - \pi n| \ll 1; n = 0, 1, 2, \dots \\ \left[\frac{\pi}{2} (2n + 1) - z \right]^{-1}; & z - \frac{\pi}{2} (2n + 1) \ll 1. \end{cases} \quad (16)$$

В практически интересном случае¹

$$(a/L) \exp(Q_A/kT) \gg 1 \quad (17)$$

получим:

$$\lambda_0^2 \approx (aL)^{-1} \exp(-Q_A/kT). \quad (18)$$

Если, кроме (17) выполнено условие $a/L \ll 1$, то

$$\lambda_1^2 \approx \pi^2/L^2 \gg \lambda_0^2. \quad (19)$$

Определим далее вид решения $P(x, t)$. Отметим, что пользоваться разложением типа (10) в случае сингулярного уравнения (11) нужно с большой осмотрительностью. Можно показать, что функции $\varphi_n(x)$, определяемые формулами (13)–(15) не образуют ортогональной системы. Однако эта система функций может быть ортогонализирована преобразованием:

$$\begin{aligned} \tilde{\varphi}_n(x) &= \exp(-U(x)/2kT) \varphi_n(x) = \\ &= \begin{cases} \cos \lambda_n x; & 0 < x < a \\ [\sin 2\lambda_n a / \sin 2\lambda_n L]^{1/2} \sin \lambda_n (L + a - x); & x > a. \end{cases} \end{aligned} \quad (20)$$

Следовательно, решение $P(x, t)$ нужно искать в виде ряда:

$$P(x, t) = \exp(-U(x)/2kT) \sum_{n=0}^{\infty} A_n \tilde{\varphi}_n(x) \exp(-t/\tau_n). \quad (21)$$

Коэффициенты разложения A_n находятся обычным образом из вида начального распределения (5):

$$A_n = \frac{2[(\sin \lambda_n a)/\lambda_n a]}{a + L(\sin 2\lambda_n a)/\sin 2\lambda_n L}. \quad (22)$$

При выполнении условия (17) получаем: $A_0 \approx 1/a$; $A_1 \approx (2L/\pi a^2) \times \exp(-Q_A/kT)$ или $A_1 \ll A_0$. Таким образом, в рассматриваемом случае кинетика перехода является практически экспоненциальной:

$$N(t) = \int_0^L P(x, t) dx \approx \exp(-t/\tau_0) - \frac{2L}{\pi a} \exp(-Q_A/kT) \exp(-t/\tau_1) + \dots \quad (23)$$

¹ Условие (17), по-видимому, вполне реально, так как область локализации конформационного состояния $a \sim 0,1$ Å. Длина барьера, разделяющего конформационные состояния A и D не превышает линейных размеров белка $L \sim 10$ Å. Поэтому даже при $Q_A \sim 20$ кДж/моль и $T = 300$ К условие (17) заведомо выполняется.

и характеризуется временем перехода

$$\begin{aligned}\tau_0 &= 1/D\lambda_0^2 \approx (aL/D) \exp(Q_A/kT) = \\ &= (aL/D_0) \exp[(Q_A + \varepsilon_D)/kT]\end{aligned}\quad (24)$$

где ε_D — энергия активации конформационной диффузии [13]; τ_1 — определяется формулой (19): $\tau_1 \approx L^2/\pi^2 D \ll \tau_0$.

В противоположном пределе, когда в результате изменения химического состояния белковых групп локальный минимум энергии в конформации A практически исчезает ($Q_A \approx 0$) и

$$(a/L) \exp(Q_A/kT) \ll 1, \quad (25)$$

задача переходит к случаю диффузии в плоской яме с левой отражающей и правой поглощающей границами. При $a \ll L$ начальное условие сводится к виду: $P(x, 0) = \delta(x)$. Ряд для $P(x, t)$ в этом случае сходится медленно и кинетика перехода является неэкспоненциальной:

$$N(t) = \frac{2}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{(n + 1/2)} \exp(-t/\tau_n), \quad (26)$$

где $\tau_n = L^2/\pi^2 (n + 1/2)^2 D$. Однако в этом случае можно определить среднее время достижения точки L : $\tau_{\text{эф}} \approx 2L/D$ [18], которое соответствует времени конформационного перехода.

Обсудим физический смысл формулы (24). Сопоставляя ее с известным выражением для времени перехода, получаемом в теории абсолютных скоростей реакции: $\tau = (h/kT) \exp(\Delta F^*/kT)$ (где $\Delta F^* = \Delta E^* - T\Delta S^*$), видим, что энтальпийная часть ΔF^* в (24) равна $\Delta E^* = Q_A + \varepsilon_D$. Иными словами, потенциальный барьер в данном случае складывается из собственно конформационного барьера (Q_A) и энергии активации диффузии. Рассмотрим формально энтропийную часть барьера ΔF^* . Для этого представим предэкспоненциальный множитель коэффициента диффузии в форме $D_0 \approx l^2/\tau$, где l — «длина свободного пробега» (l по порядку величины близка к a), τ — характерное время тепловых флуктуаций $\tau \approx h/kT$. Тогда (24) можно представить в виде

$$\tau_0 \approx (aL/l^2) (h/kT) \exp(\Delta E^*/kT). \quad (27)$$

Следовательно,

$$\Delta S^* = -k \ln(aL/l^2) \approx -k \ln n,$$

где $n = L/a$ — число промежуточных конформационных подсостояний. Иными словами, «энтропия активации» в рамках изложенной модели отрицательна и пропорциональна логарифму числа промежуточных подсостояний. Смысл этого достаточно прост, так как величина n есть, фактически, отношение фазовых объемов системы в активированном и метастабильном состояниях. Таким образом, выражение (24) может быть, интерпретировано и в традиционных для кинетики терминах. Подчеркнем однако, что выражение (24) не может быть получено в рамках теории абсолютных скоростей, так как оно относится к переходу через барьер в сильно вязкой среде и по физическому смыслу близко к формуле Крамерса [18]. Формула (24) позволяет связать время перехода с вязкостью (и другими параметрами) растворителя, так как растворитель влияет на динамику поверхностных сегментов макромолекулы, принимающих участие в конформационном переходе, т. е. на параметры ε_D и n .

ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М. В. Биофизика, М.: Наука, 1981.
2. Гольданский В. И., Крупянский Ю. Ф., Фролов Е. Н. Молек. биол., 1983, т. 17, с. 532.
3. Welch G. R., Somogyi B., Damjanovich S. Progr. Biophys. Mol. Biol., 1982, v. 39, p. 109.
4. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977.
5. Чернавская Н. М., Чернавский Д. С. Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе. М.: Изд. МГУ, 1977.

6. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Молек. биол., 1982, т. 16, с. 1004.
7. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Молек. биол., 1983, т. 17, с. 1280.
8. Чернавский Д. С., Хургин Ю. И., Шноль С. Э. Молек. биол., 1967, т. 1, с. 419.
9. Хургин Ю. И., Чернавский Д. С., Шноль С. Э. В кн.: Колебательные процессы в биологических и химических системах. М.: Наука; 1967, с. 42.
10. Лихтенштейн Г. И., Котельников А. И. Молек. биол., 1983, т. 17, с. 505.
11. Аксенов С. И. Молек. биол., 1983, т. 17, с. 475.
12. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Молек. биол., 1980, т. 14, с. 1323.
13. Шайтан К. В. Вестн. МГУ. Сер. физ., astron., 1982, т. 23, с. 15.
14. Chernavskii D. S., Frolov E. N., Goldanskii V. I., Kononenko A. A., Rubin A. B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 17, p. 7222.
15. Blumenfeld L. A., Chernavskii D. S. J. Theor. Biol., 1973, v. 39, p. 1.
16. Чернавский Д. С. В кн.: Математическая биология и медицина. М.: Изд. ВИНТИ, 1978, с. 5.
17. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Биофизика, 1982, т. 27, с. 386.
18. Чандрасекар С. Стохастические проблемы в физике и астрономии. М.: Изд-во иностр. лит., 1947.

Биологический факультет
Московского государственного
университета им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
13.I.1984

KINETICS OF CONFORMATIONAL TRANSITIONS IN PROTEINS

SHAITAN K. V., RUBIN A. B., CHERNAVSKII D. S.

Department of Biology, M. V. Lomonosov Moscow State University

Conformational dynamics of proteins is discussed. Formulae for the rate of the system transition between two local minima of the conformational potential by local diffusion mechanism are presented.