

СТОХАСТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА БЕЛКА И ЭФФЕКТ МЕССБАУЭРА

ШАЙТАН К. В., РУБИН А. Б.

Для описания внутренней динамики белка предложена модель системы связанных броуновских осцилляторов. В рамках этой модели проанализирована температурная зависимость формы мессбауэровских спектров.

В последнее время интенсивно обсуждаются проблемы динамики биологических макромолекул и ее связи с функционированием белков [1—8]. Эффект Мессбауэра и релеевское рассеяние мессбауэровского излучения оказались весьма удобным инструментом для экспериментального изучения динамики белка в диапазоне времен релаксации [7, 9—12] 10^{-8} — 10^{-8} сек. В этих экспериментах были обнаружены особенности температурных зависимостей параметров мессбауэровских спектров белков и биологических мембран. Эти особенности были интерпретированы в рамках простейшей модели локального броуновского осциллятора с сильным затуханием [13] или ограниченной диффузии в потенциальной яме [14] для движения фрагментов молекулы белка. Несмотря на то что приближение локального броуновского осциллятора является в данной ситуации достаточно грубым и не учитывает многих структурных особенностей белка, оно хорошо описывает имеющиеся экспериментальные данные и позволяет определить ряд структурно-динамических характеристик биомacroмолекул [3, 5, 6, 10—14]. Недавно были проведены более точные измерения мессбауэровских спектров [11, 12], обработка которых допускает дальнейшую детализацию физических представлений о динамике белка.

Анализ совокупности имеющихся структурных и динамических данных показывает, что молекула белка может быть представлена жидкообразной каплей, армированной относительно упругим полипептидным каркасом [5, 6]. При этом боковые группы и сорбированные молекулы растворителя образуют желеобразную опушку вокруг фрагментов, имеющих α -спиральную или β -конформацию, которые определенным образом сочленены друг с другом. Полипептидный каркас испытывает изгибные флуктуации, подробно рассмотренные в [5, 6], с амплитудами и временами корреляции, резко зависящими от длины почти прямолинейных участков. Боковые группы, прикрепленные к каркасу, также вовлекаются в флуктуации последнего, но они имеют и собственные степени свободы. Таким образом, среднее квадратичное смещение боковой группы в лабораторной системе координат определяется суммой средних квадратичных смещений, возникающих как за счет флуктуаций полипептидного каркаса, так и смещений боковых групп относительно каркаса. При наличии смещений и вращения молекулы белка как целого к этой сумме должны быть добавлены соответствующие слагаемые, однако их вклад часто оказывается незначительным [5—12]. Кроме того, при достаточно большой длине полипептидного каркаса время корреляции его изгибных флуктуаций оказывается намного большим времени когерентности мессбауэровского излучения. В этом случае основной вклад в изменение формы спектра дают наиболее мягкие степени свободы, связанные с латеральными движениями боковых групп, конформационную динамику которых мы будем моделировать системой из N одинаковых связанных осцилляторов, прикрепленных упругими связями к жесткому каркасу (рис. 1). Лагранжиан и диссипативная функция такой системы

имеют очевидный вид [15]:

$$L = \frac{m}{2} \sum_{n=0}^{N-1} \dot{x}_n^2 - \frac{m}{2} \omega_c^2 \sum_{n=0}^{N-1} (x_{n+1} - x_n)^2 - \frac{m}{2} \omega_0^2 \sum_{n=0}^{N-1} x_n^2 + \sum_{n=0}^{N-1} x_n F_n(t), \quad (1)$$

$$F = \frac{1}{2} \gamma \sum_{n=0}^{N-1} \dot{x}_n^2. \quad (2)$$

Здесь x_n — смещение n -й группы относительно положения равновесия, γ — эффективный коэффициент трения, учитывающий диссипативные процессы, возникающие при смещениях частицы с амплитудами $\sim 0,1$ нм в конденсированной среде; $F_n(t)$ — случайная сила (тепловой шум), действующая на n -ю частицу и удовлетворяющая корреляционно-му соотношению [16]:

$$\langle F_{n'}(t) F_n(0) \rangle = 2k_B T \gamma \delta(t) \delta_{n,n'}. \quad (3)$$

Следуя обычной процедуре, наложим на систему циклические граничные условия $x_{n+N} = x_n$ и введем систему нормальных координат

$$q_k = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{n=0}^{N-1} x_n \cos\left(\frac{2\pi kn}{N}\right); \quad k = 0, 1, 2, \dots, \frac{1}{2}N \text{ (если } N \text{ — четное)}$$

или (4)

$$g_k = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{n=0}^{N-1} x_n \sin\left(\frac{2\pi kn}{N}\right); \quad k = 0, 1, 2, \dots, \frac{1}{2}(N-1) \text{ (если } N \text{ — нечетное)}.$$

Обратное преобразование имеет вид

$$x_n(t) \sim \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_k \left[q_k \cos\left(\frac{2\pi kn}{N}\right) - g_k \sin\left(\frac{2\pi kn}{N}\right) \right]. \quad (5)$$

Преимущество системы координат (4), диагонализующей лагранжиан, состоит также в том, что сопряженные q_k и g_k случайные $\Phi_k(t)$ и $\Psi_k(t)$ соответственно не коррелируют, т. е.

$$\Phi_k(t) = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{n=0}^{N-1} F_n(t) \cos\left(\frac{2\pi kn}{N}\right), \quad (6)$$

$$\Psi_k(t) = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{n=0}^{N-1} F_n(t) \sin\left(\frac{2\pi kn}{N}\right)$$

и

$$\langle \Phi_k \Psi_{k'} \rangle = 0; \quad \langle \Phi_k(t) \Phi_{k'}(0) \rangle = \langle \Psi_k(t) \Psi_{k'}(0) \rangle = 2k_B T \gamma \delta(t) \delta_{k,k'}. \quad (7)$$

Таким образом, координаты q_k и g_k образуют независимую систему

$$\langle q_k g_{k'} \rangle = 0 \text{ и } \langle g_k g_{k'} \rangle = \langle q_k q_{k'} \rangle = 0 \text{ при } k \neq k'. \quad (8)$$

Эти переменные удовлетворяют уравнениям Ланжевена:

$$m\ddot{q}_k + \gamma\dot{q}_k + m\omega_k^2 q_k = \Phi_k(t), \quad (9)$$

$$m\ddot{g}_k + \gamma\dot{g}_k + m\omega_k^2 g_k = \Psi_k(t), \quad (10)$$

где

$$\omega_k^2 = \omega_0^2 + 2\omega_c^2 \left[1 - \cos\left(\frac{2\pi k}{N}\right) \right].$$

Для мягких конформационных мод соотношение параметров таково, что реализуется случай сильного затухания [13]: $\frac{\gamma}{m} \gg \omega_k$, и инерциальным членом в уравнениях (9) можно пренебречь. Пользуясь стандарт-

ной процедурой, получим корреляционные функции нормальных координат в виде

$$\langle q_k(t) q_k(0) \rangle = \langle g_k(t) g_k(0) \rangle = \frac{k_B T}{m \omega_k^2} e^{-t/\tau_k}, \quad (11)$$

где $\tau_k = \gamma / m \omega_k^2$ — время корреляции k -й моды. Учитывая независимость случайных переменных (8) и переходя от суммирования по k к интегрированию (т. е. полагая $N \gg 1$), получим после относительно простых преобразований формулу для среднего квадратичного смещения группы

$$\langle [\Delta x_n(t)]^2 \rangle = \frac{k_B T}{m \omega_c^2} \int_0^{t/\tau_p} I_0(y) \exp \left\{ -y - \frac{\omega_0^2}{2\omega_c^2} y \right\} dy, \quad (12)$$

где $I_0(y)$ — модифицированная функция Бесселя, $\tau_p = \gamma / 2m \omega_c^2$ — характерное время релаксации. В предельном случае $\omega_c \ll \omega_0$ формула (12)

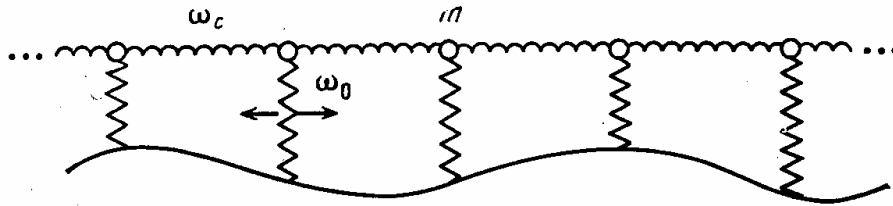


Рис. 1. Система связанных осцилляторов, моделирующая межсегментальные взаимодействия в белках

переходит в соответствующее выражение для локального осциллятора [13]. При $\omega_c \gg \omega_0$ и временах $t \gg \tau_p$ имеем асимптотическую формулу

$$\langle [\Delta x_n(t)]^2 \rangle \approx \frac{k_B T}{m \omega_0 \omega_c} \operatorname{erf}(\sqrt{b t / \tau_p}), \quad (13)$$

где мы ввели параметр $b = \omega_0^2 / 2\omega_c^2$. $\operatorname{erf}(z)$ — функция ошибок:

$$\operatorname{erf}(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-z^2} dz.$$

При $t \ll \tau_p$ асимптотика (12) совпадает с выражением для локального броуновского осциллятора [13]. Приведем также полезную формулу для корреляционных функций вида $\langle x_n(t) x_{n'}(0) \rangle$:

$$\langle x_n(t) x_{n'}(0) \rangle = \frac{k_B T}{2m \omega_c^2} \int_{t/\tau_p}^{\infty} I_{|n-n'|}(y) e^{-y(1+b)} dy. \quad (14)$$

Применим полученные результаты к анализу формы мессбауэровских спектров. Как известно, спектральная функция в гауссовском приближении определяется формулой

$$g(\omega) = \frac{1}{\pi} \operatorname{Re} \int_0^{\infty} \exp \left\{ -\frac{\Gamma}{2} t - i(\omega - \omega_e) t - \frac{1}{2\lambda^2} \langle [\Delta x_n(t)]^2 \rangle \right\} dt, \quad (15)$$

где Γ — ширина уровня возбужденного ядра, ω_e — резонансная частота перехода, λ — длина волны, деленная на 2π . Спектр релеевского рассеяния мессбауэровского излучения определяется формулой типа (15) с заменой $1/\lambda$ на величину изменения волнового вектора при рассеянии γ -кванта [9]. В рассматриваемом конкретном случае удобно представить спектральную функцию в безразмерном виде:

$$G_{p,b}(2\Delta\omega/\Gamma) = \frac{1}{\pi} \int_0^{\infty} \exp \left\{ -z - a^2 X(b, z/pb) \right\} \cos \left(\frac{2z\Delta\omega}{\Gamma} \right) dz. \quad (16)$$

Здесь $\Delta\omega = \omega - \omega_0$ — дефект резонанса, $a^2 = k_B T / \lambda^2 m \omega_0^2$; $X(b, z/pb)$ — безразмерная величина среднего квадратичного смещения, которая, согласно (12), равна

$$X(b, z/pb) = b \int_0^{z/pb} I_0(y) e^{-y(1+b)} dy. \quad (17)$$

Температурная зависимость спектральной функции определяется в основном параметром $p = \Gamma \tau_0 / 2$, где $\tau_0 = \gamma / m \omega_0^2$ — характерное время релаксации для локального осциллятора. Спектральная функция $G_{p,b}$ нормирована на $\Gamma/2$. При $b \rightarrow \infty$ формулы (15) — (17) переходят в известные формулы для локального броуновского осциллятора [13]. При $b \rightarrow 0$ получаем формулы для простой цепочки осцилляторов. Можно показать,

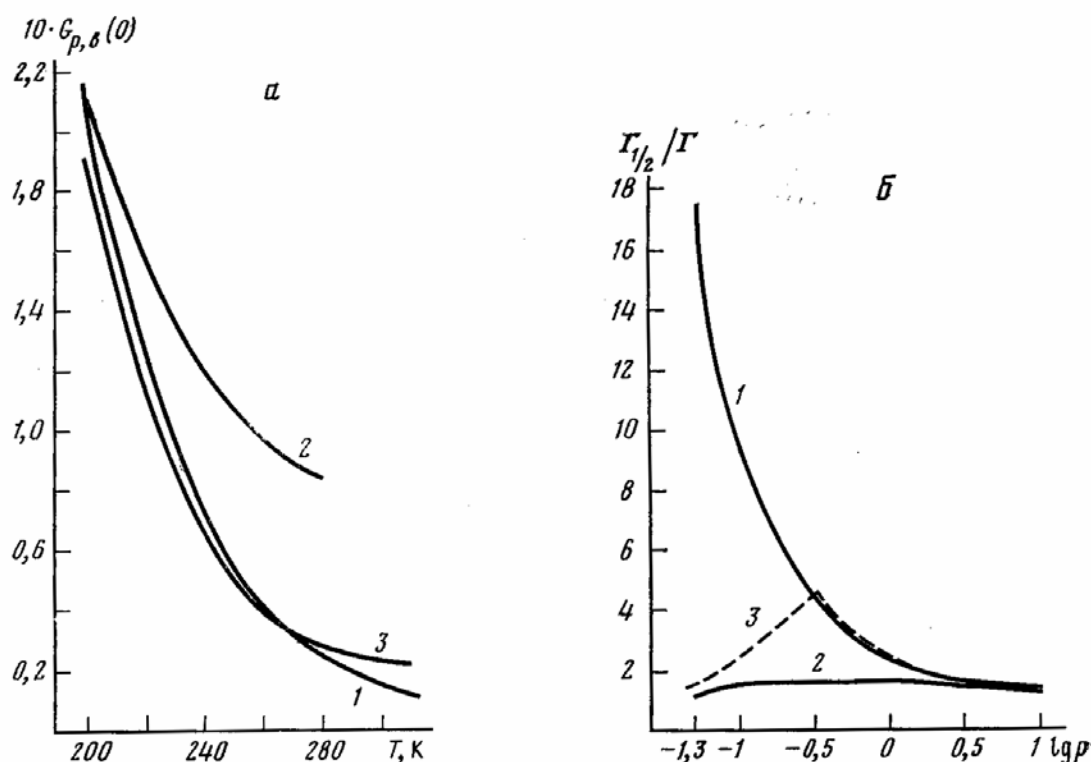


Рис. 2. Температурные зависимости интенсивности квазиупругой компоненты (а) и относительной ширины спектра $\Gamma^{-1}\Gamma_{1/2}$ (б) при различных значениях параметра межсегментального взаимодействия $b = \omega_0^2 / 2\omega_c^2$. 1 — $b=0$; 2 — $b=0,5$; 3 — $b=\infty$. Зависимость p от температуры описана в тексте

что при $pb \gg 12$ с точностью не менее 2% спектр $G_{p,b}$ соответствует мессбауэровскому спектру локального осциллятора с эффективной полной амплитудой $\tilde{a}^2 = a^2 \frac{b}{1+b}$ и эффективным временем релаксации $\tilde{\tau}_0 = \tau_0 \frac{b}{1+b}$.

Формы спектральных линий $G_{p,b} \left(\frac{2\Delta\omega}{\Gamma} \right)$ при различных значениях параметров b и p вычислялись на ЭВМ. На рис. 2 приведены типичные зависимости фактора f' (или $G_{p,b}(0)$) от температуры при значении параметра $a^2 = 3$ [13]. Зависимость p от температуры определяли при значении энергии активации микровязкости и предэкспонента τ_0 , характерного для ряда белков [13]: $\tau_0 \approx 4 \cdot 10^{12} \exp(2500/T)$.

При различных значениях параметра b наблюдается типичная для влажных белков и полимеров зависимость $f'(T)$. Что касается температурной зависимости ширины на полувысоте спектральной линии $\Gamma_{1/2}$, то здесь наблюдаются отчетливые эффекты, связанные с делокализацией колебательных мод (рис. 2, б). В случае локального осциллятора видно ограниченное уширение спектра ($\sim$ в 4,5 раза) при уменьшении времени релаксации до значений $\tau_0 \approx 0,6/\Gamma$. Дальнейшее уменьшение τ_0 приводит к сужению спектральной линии. В случае эффективного взаимодействия боковых групп ($b=0,5$) уширение линии незначительно и сла-

бо зависит от температуры. При сильной делокализации колебательных мод ($b=0$) ширина линии монотонно возрастает, хотя и по существенно более медленному закону, чем в случае свободной диффузии.

Таким образом, анализ динамики наиболее мягких латеральных движений боковых групп показывает, что эффекты, наблюдаемые в мессбауэровской спектроскопии белков [9—12], связаны с ограниченным броуновским движением фрагментов макромолекул, причем взаимодействие этих фрагментов сказывается на форме спектральных линий. Анализ температурных зависимостей фактора f' наряду с параметром $\Gamma_{1/2}$ может дать ценную информацию о структурно-динамической организации биомacroмолекул.

Авторы благодарны В. И. Гольданскому за полезные обсуждения и И. В. Упорову за помощь при численных расчетах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М. В. Биофизика. М.: Наука, 1981.
2. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. М., Наука, 1977.
3. Чернавская Н. М., Чернавский Д. С. Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе. М.: Изд-во МГУ, 1977.
4. Karplus M., McCammon J. A. CRC Crit. Rev. Biochem., 1981, v. 9, p. 923.
5. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1982, т. 16, с. 1004.
6. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1983, т. 17, с. 1280.
7. Берг А. И., Нокс П. П., Кононенко А. А. и др. Мол. биол., 1979, т. 13, с. 81.
8. Welch G. R., Somogyi B., Damjanovich S. Progr. Biophys. Mol. Biol., 1982, v. 39, p. 109.
9. Крупянский Ю. Ф., Шайтан К. В., Гаубман Е. Э. и др. Биофизика, 1981, т. 26, с. 1037.
10. Гольданский В. И., Крупянский Ю. Ф., Фролов Е. Н. Мол. биол., 1983, т. 17, с. 532.
11. Parak F., Knapp E. W., Kucheida D. J. Mol. Biol., 1982, v. 161, p. 177.
12. Bauminger E. R., Cohen S. G., Nowik I., Ofer S., Yariv J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1983, v. 80, p. 736.
13. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Мол. биол., 1980, т. 14, с. 1323.
14. Шайтан К. В. Вестн. Моск. ун-та. Сер. физ. астр., 1982, т. 23, с. 15.
15. Ландау Л. Д., Лифшиц Е. М. Механика. М.: Наука, 1965.
16. Резиба П., Де Лернер М. Классическая кинетическая теория жидкостей и газов. М.: Мир, 1980.

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

Поступила в редакцию
6.XII.1983

STOCHASTIC DYNAMICS OF PROTEINS AND THE THEORY OF MÖSSBAUER EFFECT

SHAITAN K. V., RUBIN A. B.

Biological Department, M. V. Lomonosov Moscow State University

A model involving N-coupled Brownian oscillators has been developed for the internal dynamics of biological macromolecules. On the basis of the model the shapes of temperature dependencies of the Mössbauer spectra are analysed.