УДК 539.172.3 : 539.2

ЭФФЕКТ МЁССБАУЭРА ДЛЯ БРОУНОВСКОГО ОСЦИЛЛЯТОРА С СИЛЬНЫМ ЗАТУХАНИЕМ И ВНУТРЕННЯЯ ДИНАМИКА МАКРОМОЛЕКУЛ

К. В. Шайтан

(кафедра биофизики биологического факультета)

В последнее время интенсивно обсуждается вопрос о механизме конформационной подвижности белков [1—3] в свете новой информации по динамике белка, полученной с помощью мёссбауэровской спектроскопии и рассеяния рентгеновских лучей [4—6]. Ранее нами была предложена модель конформационной подвижности белков как непрерывной ограниченной диффузии фрагментов макромолекул при наличии упругих сил [7—9], которая хорошо согласуется с экспериментальными данными [4—9]. С другой стороны, Фрауэнфельдер с соавторами [4] предложил качественную динамическую модель конформационной подвижности как прыжковой диффузии фрагментов макромолекул по набору дискретных конформационных подсостояний. Ниже мы дадим точное решение для этой модели и обсудим динамику белка в свете данных по эффекту Мёссбауэра.

В целях рационализации изложения мы начнем рассмотрение динамики конформационной подвижности со вспомогательной модели: неограниченной прыжковой диффузии. Динамика рассматриваемых процессов определяется вероятностью $P_{nn_0}(t)$ найти систему в конформационном подсостоянии n, если при $t=0$ система находилась в подсостоянии n_0. В случае неограниченной диффузии достаточно знать величину

$$P_{n,0}^{(\infty)}(t) = \sum_{R=n}^{\infty} p(n, R)\,\chi(R, t), \tag{1}$$

где

$$p(n, R) = \left(\frac{1}{2}\right)^R R! \Big/ \left[\frac{1}{2}(R-n)\right]! \left[\frac{1}{2}(R+n)\right]!$$

вероятность найти систему в состоянии n, если сделано R прыжков. Считается, что вероятность прыжка вправо равна вероятности прыжка влево. $\chi(R, t)$ — вероятность за время t совершить R прыжков. ν — средняя частота прыжков:

$$\chi(R, t) = \frac{(\nu t)^R}{R!} e^{-\nu t}; \ \nu = \nu_0 e^{-\varepsilon/kT}, \tag{2}$$

ε — величина потенциального барьера. Суммируя (1), получаем:

$$P_{n,0}^{\infty}(t) = I_n(\nu t)\, e^{-\nu t}, \tag{3}$$

где $I_n(\nu t)$ — модифицированная функция Бесселя.

Рассмотрим далее случай циклической диффузии по N подсостояниям. Математическое условие цикличности состоит в том, что состояния n и $n+Nj$ (где $j = 0, 1, 2...$) считаются тождественными. Используя

(3), немедленно имеем решение задачи:

$$P_{n,n_0}^{(C_N)}(t)=e^{-\nu t}\sum_{j=-\infty}^{+\infty} I_{(n-n_0)+Nj}(\nu t). \tag{4}$$

Ряд в правой части (4) есть ряд Неймана $\sum_m a_m I_m(z)$, где коэффициенты a_m могут быть представлены в виде:

$$a_m=\delta_{m,[(n-n_0)+Nj]}=\frac{1}{N}\sum_{k=0}^{N-1}\exp\left\{\frac{2\pi ik}{N}(n_0-n+m)\right\}. \tag{5}$$

Меняя порядок суммирования и пользуясь соотношением

$$e^{z\cos\theta}=\sum_{m=-\infty}^{+\infty} I_m(z)\,e^{im\theta}, \tag{6}$$

получим

$$P_{n,n_0}^{(C_N)}(t)=\frac{1}{N}\sum_{k=0}^{N-1}\exp\left\{-2\nu t\sin^2\left(\frac{\pi k}{N}\right)\right\}\cos\frac{2\pi k}{N}(n-n_0). \tag{7}$$

Формулы для циклической диффузии описывают динамику заторможенного вращения. Однако при изучении конформационной подвижности больший интерес представляет случай диффузии по N подсостояниям с отражающими стенками. Эта задача может быть сведена к предыдущей следующим приемом. Рассмотрим циклическую диффузию по $2(N-1)$ состояниям. Вероятность найти систему в одном из этих подсостояний определяется формулой (7) с заменой N на $2(N-1)$. Очевидно также, что вероятность найти систему в состоянии n в случае отражающих границ в точках $n=0$ и $n=N-1$ выражается через вероятности $P_{n,n_0}^{(C_{2N-2})}(t)$ следующим образом:

$$P_{n,n_0}^{(R_N)}(t)=\begin{cases} P_{n,n_0}^{(C_{2N-2})}(t) \text{ при } a=0,\ N-1,\\ P_{n,n_0}^{(C_{2N-2})}(t)+P_{[2N-n-2],n_0}^{(C_{2N-2})}(t) \text{ при } 0<n<N-1. \end{cases} \tag{8}$$

После громоздких, но простых вычислений имеем:

$$P_{n,n_0}^{(R_N)}(t)=2b_n\frac{(-1)^{n+n_0}}{N-1}\sum_{k=0}^{N-2}\exp\{-2\nu t\cos^2\pi k/2(N-1)\}\times$$
$$\times\cos\frac{\pi kn_0}{N-1}\cos\frac{\pi kn}{N-1}+\frac{b_n}{N-1}[1-(-1)^{n+n_0}e^{-2\nu t}], \tag{9}$$

где

$$b_n=\begin{cases} 1 \text{ при } 0<n<N-1,\\ 1/2 \text{ при } n=0,\ N-1. \end{cases} \tag{10}$$

Заметим, что формулы (7) и (9) могут быть также получены при решении соответствующих систем кинетических уравнений для вероятностей $P_{n,n_0}(t)$.

Рассмотрим далее влияние особенностей механизма конформационной подвижности на результаты экспериментов по γ-резонансной спектроскопии. Как хорошо известно, измеряемые спектры $g(\omega)$ [4—6] определяются корреляционной функцией для рассеивающих центров:

$$g(\omega)=\pi^{-1}\operatorname{Re}\int\limits_0^\infty \langle e^{i\Delta x(t)/\lambda}\rangle\, e^{-i(\omega-\omega_e)t-\Gamma t/2}\,dt, \tag{11}$$

где $\Delta x(t)$ — смещение рассеивающего атома за время t. В случае ^{57}Fe $\lambda\simeq 0{,}13$ Å, ω_e — резонансная частота, $\Gamma\sim 10^7$ с$^{-1}$ — естественная ширина линии. Задача состоит в том, чтобы при заданной динамике конформационной подвижности вычислить корреляционную функцию

$$\langle e^{i\Delta x(t)/\lambda}\rangle=\frac{1}{N}\sum_{n,n_0}P_{n,n_0}(t)\,e^{i(n-n_0)l/\lambda}, \tag{12}$$

где l — длина прыжка, которую мы сейчас считаем постоянной. В частности, в случае неограниченной прыжковой диффузии имеем:

$$\langle e^{i\Delta x(t)/\lambda}\rangle=\sum_{n=-\infty}^{+\infty}P_{n,0}^{(\infty)}(t)\,e^{inl/\lambda}=e^{-2\nu t\sin^2(l/2\lambda)}. \tag{13}$$

Соответствующая спектральная функция $g(\omega)$ так же, как и в случае непрерывной диффузии, имеет лоренцевскую форму с шириной $\Gamma+\Delta\Gamma$, где уширение $\Delta\Gamma=4\nu\sin^2(l/2\lambda)$. Существенное отличие от случая непрерывной диффузии возникает при усреднении $g(\omega)$ по всевозможным ориентациям системы:

$$\langle g(\omega)\rangle_0=\frac{1}{l}\int\limits_0^l g(\omega)\,dl. \tag{14}$$

При $l\gg\lambda$ имеем:

$$\langle g(\omega)\rangle_0\approx\pi^{-1}\operatorname{Re}\left[\left(\frac{\Gamma}{2}+\nu+i(\omega-\omega_e)\right)^2-\nu^2\right]^{-1/2}. \tag{15}$$

Эта формула справедлива и в случае неодинаковых длин прыжка; важно лишь условие $l_{\min}\gg\lambda$. Спектральная функция (15) существенно отличается от случая непрерывной диффузии. Так, например, при $\gamma\gg\Gamma$ уширение спектра $\Delta\Gamma_{эф}\simeq\sqrt{\nu\Gamma}$. Формулы типа (14), (15) обсуждались ранее в связи с диффузией дефектов в кристаллической решетке [11].

Перейдем к ограниченной прыжковой диффузии. Подставляя в (12) формулу (9), для $P_{n,n_0}^{(R_N)}(t)$ получим

$$\langle e^{i\Delta x(t)/\lambda}\rangle=f+\frac{1}{N(N-1)}\sum_{k=0}^{N-2}\frac{\sin^2\left(\frac{l}{\lambda}\right)+(-1)^{N-k}\sin\left(\frac{l}{\lambda}\right)\times}{2^{\delta_{k,0}}\left[\cos\frac{l}{\lambda}+\cos\frac{\pi k}{(N-1)}\right]^2}$$

$$\frac{\times\left[\sin\frac{Nl}{\lambda}+\sin\frac{(N-1)l}{\lambda}\cos\frac{\pi k}{N-1}\right]}{}\,e^{-2\nu t\cos^2[\pi k/2(N-1)]}, \tag{16}$$

где f — вклад неуширенной компоненты

$$f=\frac{\cos(l/2\lambda)\sin(Nl/2\lambda)\sin\left(\frac{(N-1)l}{2\lambda}\right)}{N(N-1)\sin^2(l/2\lambda)}. \tag{17}$$

Согласно общим представлениям [10] динамика диффузионного движения фрагмента белковой цепи в конформационном потенциале $U(x)$ должна описываться уравнением Фоккера—Планка:

$$\frac{\partial P(x,t)}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} D(x) \left[\frac{\partial P(x,t)}{\partial x} + \frac{1}{kT} P(x,t) \frac{\partial U(x)}{\partial x} \right], \tag{21}$$

где $P(x, t)$ — плотность вероятности найти систему в момент времени t в конформации, характеризуемой значением координаты x. $D(x)$ — коэффициент конформационной диффузии, связанный простым образом с коэффициентом внутреннего трения [7, 8]: $D(x) = kT/\gamma(x)$. Зависимость $D(x)$ фактически отражает зависимость энергий активации микродвижений белковых групп от конформации: $D(x) = D_0 e^{-\varepsilon(x)/kT}$.

Рассмотрим движение в прямоугольном потенциальном «ящике» $(0, L)$ с длиной L и постоянным коэффициентом диффузии D. Решение соответствующего диффузионного уравнения (21) с краевым условием $P(x, 0) = \delta(x - x_0)$ имеет вид:

$$P(x,t) = \frac{1}{L} + \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} \cos\frac{\pi n x_0}{L} \cos\frac{\pi n x}{L} e^{-\pi^2 n^2 Dt/L^2}. \tag{22}$$

Используя (22), вычислим корреляционную функцию:

$$\langle e^{i\Delta x(t)/\bar{\lambda}} \rangle = \frac{\sin^2(\pi L/\lambda)}{(\pi L/\lambda)^2} + \frac{2L^2}{\pi^2 \lambda^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin^2 \pi \left(\frac{l}{\lambda} - \frac{n}{2} \right)}{\left(\frac{L}{\lambda} + n/2 \right)^2 \left(\frac{L}{\lambda} - n/2 \right)^2} e^{-\pi^2 n^2 Dt/L^2}. \tag{23}$$

Формула (23) является фактически предельным случаем (16) при $N \to \infty$ и $Nl = L$. Среднеквадратичное смещение в этой модели описывается формулой

$$\langle (x - x_0)^2 \rangle = \frac{1}{6} L^2 \left[1 - \frac{6}{(\pi/2)^4} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{1}{(2m+1)^4} e^{-\pi^2 (2m+1)^2 Dt/L^2} \right], \tag{24}$$

которая с ошибкой меньше 1% имеет вид:

$$\langle [\Delta x(t)]^2 \rangle \approx \frac{1}{6} L^2 [1 - e^{-\pi^2 Dt/L^2}]. \tag{25}$$

Иными словами, в гауссовском приближении модель прямоугольной потенциальной «ямы» приводит практически к тому же результату для корреляционной функции, что и модель броуновского осциллятора с сильным затуханием, разобранная в работах [7, 8]. Вероятность эффекта Мессбауэра в этом случае определяется формулой

$$f' = 1 - a^2 e^{-a^2} \int_0^1 e^{a^2 y} y^{n(T)} dy, \tag{26}$$

где $a^2 = L^2/12\bar{\lambda}^2$; $n(T) = \tau_c \Gamma/2$, а τ_c — время корреляции ограниченной диффузии (или время корреляции конформационных движений): $\tau_c = L^2/\pi^2 D$. Формула (26) находится в хорошем согласии с имеющимися экспериментальными результатами по эффекту Мёссбауэра в белках [4—6]. В частности, анализ экспериментальной зависимости $f'(T)$ для хроматофоров [5] приводит к следующим значениям параметров: $L \approx$

Спектр $g(\omega)$ согласно формулам (11), (16) представляет собой суперпозицию N лоренцевских линий с общим центром:

$$g(\omega)=f\frac{\Gamma/2\pi}{(\omega-\omega_e)^2+\Gamma^2/4}+\sum_{k=0}^{N-2} f_k\frac{\Gamma_k/2\pi}{(\omega-\omega_e)^2+\Gamma_k^2/4}, \tag{18}$$

где $\Gamma_k=\Gamma+4\nu\cos^2(\pi k/2(N-1))$. Первое слагаемое в (18) соответствует мёссбауэровской линии. Остальные быстро сглаживаются при увеличении температуры. Частный случай формул (16) и (18) обсуждался в связи с диффузией примесных атомов в твердых телах [11].

Усредним величину f по ориентациям системы

$$\langle f\rangle_0=\frac{1}{l}\int_0^l f(l)\,dl=\frac{1}{N}+\frac{1}{N(N-1)}\sum_{n=1}^{N-1}\left[\frac{\sin(nl/\lambdabar)}{nl/\lambdabar}+2\sum_{k=1}^{n-1}\frac{\sin(kl/\lambdabar)}{kl/\lambdabar}\right]. \tag{19}$$

В предельном случае $l\gg\lambdabar$ получим

$$\langle f\rangle_0\approx 1/N \text{ и } \langle f_k\rangle_0\approx 1/N. \tag{20}$$

Формулы (17)—(20) практически представляют собой решение для модели конформационной подвижности, предложенной в [4]. Частный случай $N=2$ был разобран нами ранее [7, 8].

Необходимо отметить, что для $l>\lambdabar$ при вычислении корреляционной функции нельзя пользоваться гауссовским приближением и математическая структура формул для $\langle e^{i\Delta x(t)/\lambdabar}\rangle$ в дискретном случае существенно отличается от континуальных моделей. В частности, обычно используемое выражение для фактора Дебая—Валлера: $f=e^{-\langle x^2\rangle/2\lambdabar^2}$, где $<x^2>$ — среднеквадратичная амплитуда движений атомов при температуре T, становится неверным. Поэтому попытки восстановить форму конформационного потенциала по зависимости $\ln f(T)$ не вполне корректны [4].

Рассмотрим подробнее применимость модели ограниченной прыжковой диффузии к описанию конформационной подвижности в белках и липидах на основании данных по мёссбауэровской спектроскопии [4—6]. Согласно имеющимся данным [5] доля γ-квантов, поглощаемых без отдачи ядрами ^{57}Fe, введенными в белок, уменьшается примерно в 20 раз в достаточно узком температурном интервале. Пользуясь моделью прыжковой диффузии по дискретным конформационным подсостояниям, мы должны взять $N\approx 20$. С другой стороны, по независимым оценкам [7, 8] полная амплитуда рассматриваемых движений составляет ~ 1 Å. Отсюда длина прыжка $l\sim 0{,}05$ Å или $l<\lambdabar$. Иными словами, для исследованных объектов условие $l\gg\lambdabar$ не выполняется и модель дискретных конформационных подсостояний должна быть заменена континуальной моделью [7, 8]. Мы не исключаем возможность наличия дискретных конформационных подсостояний для отдельных участков белка. Однако имеющиеся экспериментальные данные [4—6] свидетельствуют о том, что внутренняя подвижность белка в основном носит характер ограниченной континуальной диффузии. Диффузионный характер микродвижений фрагментов белковой цепи, по-видимому, обусловлен кооперативностью рассматриваемого процесса. Вследствие этого не существует строго определенных значений для длины прыжка, а имеется непрерывное распределение типа

$$\rho(l)\approx(\sqrt{\pi}/l_0)\,e^{-l^2/l_0^2}\ [10].$$

$\simeq 0,8$ Å; $\varepsilon=5$ ккал/моль; $D \approx 0,5 \cdot 10^{-9}$ см^2/с при $T=300$ К. Эти значения соответствуют имеющимся представлениям о молекулярной структуре объекта [7, 8, 12].

Автор благодарит В. И. Гольданского, А. Б. Рубина, А. Р. Хохлова и Ю. Ф. Крупянского за полезные обсуждения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Волькенштейн М. В. Общая биофизика. М.: Наука, 1978. [2] Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977. [3] Rubin A. B. Photochem. Photobiol, 1978, 28, p. 1021. [4] Frauenfelder H., Petsko G. A., Tscrnoglou D. Nature, 1979, 280, p. 565. [5] Берг А. И., Нокс П. П., Кононенко А. А. и др. Молекулярная биология, 1979, 13, с. 81. [6] Крупянский Ю. Ф., Шайтан К. В., Гаубман Е. Е. и др. Биофизика, 1981, 26, № 6. [7] Шайтан К. В., Рубин А. Б. Биофизика, 1980, 25, с. 796. [8] Шайтан К. В., Рубин А. Б. Молекулярная биология, 1980, 14, с. 1323. [9] Шайтан К. В., Рубин А. Б., Чернавский Д. С., Килячков А. А. Биофизика, 1981, 26, № 2, с. 228. [10] Чандрасекар С. Стохастические проблемы в физике и астрономии. М.: ИЛ, 1947. [11] Кривоглаз М. А., Репецкий С. П. ФТТ, 1966, 8, с. 2908. [12] Шайтан К. В., Рубин А. Б. Молекулярная биология, 1981, 15, № 2, с. 368.

Поступила в редакцию
26.02.80