

АКУСТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА

УДК 577.538.544

КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР α -ХИМОТРИПСИНА
КАК ОТКРЫТАЯ КВАНТОВАЯ СИСТЕМА

Е. В. Шувалова, Ю. М. Романовский

(кафедра общей физики и волновых процессов)

E-mail: ekaterina2504@yandex.ru

Исследовано влияние пространственной структуры фермента α -химотрипсина и тепловых флуктуаций микроокружения на эффективность работы каталитического центра, рассмотренного как квантовая открытая система. Выявлен набор динамических режимов, которым подчиняется эволюция квантовой открытой системы в шумовом поле.

Введение

Высокая скорость и избирательность биологического ферментативного катализа определяется структурой макромолекулы фермента [1, 2]. Процесс диффузионного взаимодействия с субстратом (10^{-8} с) ускоряется за счет неоднородного электростатического поля, создаваемого активным центром и поверхностью фермента. Связывание субстрата сорбционными участками (конформационные перестройки длительностью $10^{-2} \div 10^{-4}$ с) обеспечивает взаимную ориентацию расщепляемых групп и каталитически активных групп фермента, необходимую для эффективного химического превращения субстрата (скорость $> 10^8$ с $^{-1}$). Теоретическое описание стадии химических превращений возможно с использованием квантовых методов [2]. Стадию химических превращений субстрата запускает процесс миграции протона в водородной связи каталитического центра (Ser195)O $^{\gamma}$ -H...N $^{\epsilon 2}$ (His57). Предпринимались попытки анализа методами квантовой механики перехода протона в водородной связи каталитического центра α -химотрипсина, но рассматривался симметричный стационарный потенциал, не отвечающий условиям функционирования фермента [3, 4]. Поэтому необходимо построить модель нестационарного поля каталитического центра, соответствующую условиям работы сериновых амидгидролаз, и рассмотреть переход протона в таком потенциале квантовыми методами.

Модель каталитического центра α -химотрипсина

Активный центр α -химотрипсина состоит из каталитической триады Ser195, His57 и Asp102, субстрат-связывающего центра [1]. Ферменты группы сериновых амидгидролаз, к которым принадлежит α -химотрипсин, сходны в отношении остатков

каталитического центра и в отношении пространственной структуры [1, 2]. В ферментах группы сериновых амидгидролаз удается идентифицировать домены или кластеры (рис. 1) [1, 5–7]. Элементы каталитической триады серин Ser195 и гистидин His57 находятся на разных кластерах, что делает эту водородную связь нестационарной, так как домены находятся в постоянном колебательном движении относительно друг друга, вызванном взаимодействием с окружающей средой и субстратом. Полуэмпирическими методами конформационного анализа [6] можно рассчитать стационарный профиль поверхности потенциальной энергии водородной связи (Ser195)O $^{\gamma}$ -H...N $^{\epsilon 2}$ (His57) (рис. 2). Необходимо рассматривать трехмерный потенциал. Но поскольку проекции потенциала $U(z)$ ($\forall y, x = \text{const}$) (рис. 2, а), $U(y)$ ($\forall z, x = \text{const}$) (рис. 2, в) представляют собой узкие желоба параболической формы с одним минимумом вблизи значения $z, y \approx 0$, в первом приближении можно рассмотреть одномерную задачу $U(x)$ ($z, y \approx 0$) (рис. 2, б). Равновесная конформация представляет собой потенциал с асимметрией ≈ 30 ккал/моль, в которой расстояние между кислородом серина (Ser195)O $^{\gamma}$ и углеродом субстрата C'(P1) состав-

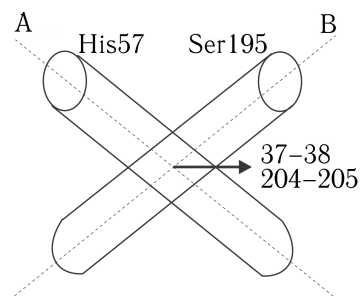


Рис. 1. Блочная модель двухдоменной молекулы α -химотрипсина (точкой в центре обозначена ось шарнира)

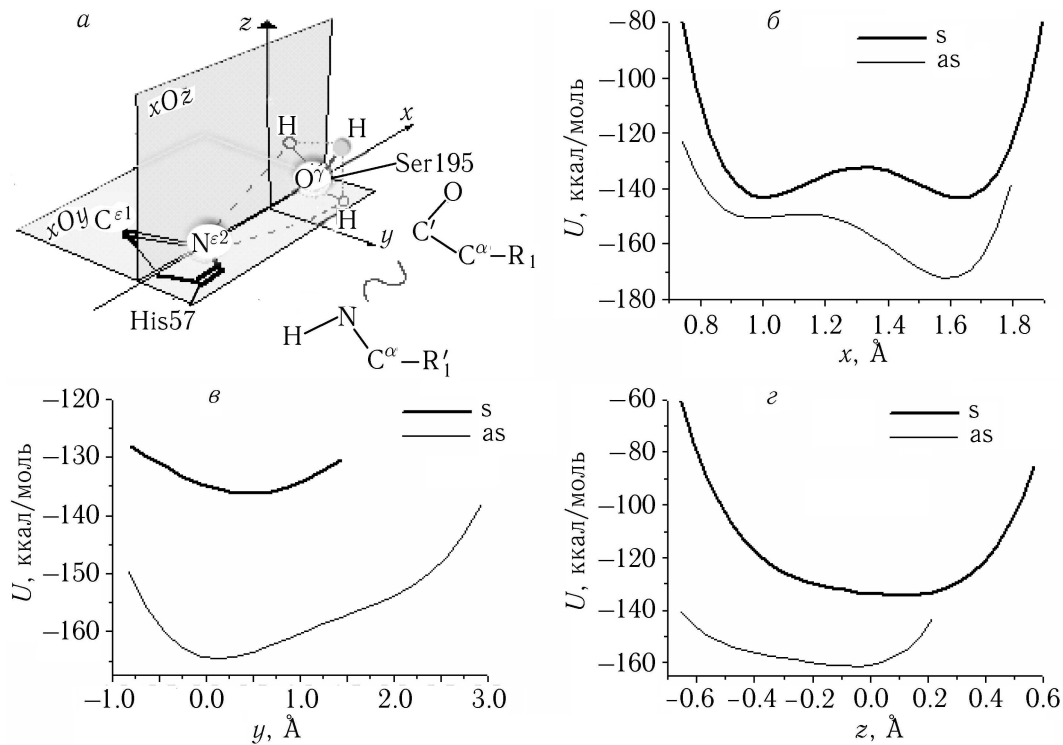


Рис. 2. (а) Система координат водородной связи Ser195–His57 и расположение амидной связи субстрата. Плоскости профилей поверхности потенциальной энергии: UOX (б) $y, z \approx 0$ Å, UOY (в) $x \approx 1.35, z \approx 0$ Å, UOZ (г) $x \approx 1.35, y \approx 0$ Å

ляет 3 Å. Если уменьшить расстояние между этими атомами до 1.067 Å, можно получить симметричный потенциал, но такая конформация неравновесна. Обычно приближение углерода субстрата к кислороду серина носит характер тепловой флуктуации.

Метод

Водородная связь (Ser195)O γ –H...N ϵ 2 (His57) рассматривается как квантовая открытая для взаимодействия с окружением система, описываемая гамильтонианом общего вида [5–8]

$$\hat{H}(\hat{r}, \hat{p}, t) = \hat{H}_0(\hat{r}, \hat{p}) + \hat{H}_\xi(\hat{r}, \hat{p}, t), \quad (1)$$

где $\hat{H}_0(\hat{r}, \hat{p}) = \hat{p}^2/(2m) + \hat{V}_0(\hat{r})$ – невозмущенный гамильтониан связи (Ser195)O γ –H...N ϵ 2 (His57) (рис. 2, з). В одномерном случае $\hat{V}_0(\hat{r}) \rightarrow \hat{V}_0(r) \equiv U(x)$:

$$V_0(r) = U_1(r) + U_2(-r + \Delta r) + \sum_n C_n (r - r_c)^{2n}, \quad (2)$$

$$U_k(r) = U_{0k} [\exp(-2a_k(r - r_{0k})) - 2 \exp(-a_k(r - r_{0k}))].$$

Здесь $U_k(r)$ – потенциал Морзе, $H_\xi(\hat{r}, \hat{p}, t)$ – гамильтониан, описывающий любой тип управляющего воздействия. В случае кластерной динамики в формуле (2) выполняется замена

$$U_k(r) \rightarrow U_k(r, \xi(t)) = U_{0k} [\exp(-2a_k(r - (r_{0k} + \xi(t)))) - 2 \exp(-a_k(r - (r_{0k} + \xi(t))))]. \quad (3)$$

В качестве модели кластерных колебаний $\xi(t)$ выбиралась модель цветного шума [9]:

$$\frac{d\xi}{dt} = v, \quad \frac{dv}{dt} + 2\delta v + \omega_0^2 \xi = \zeta(t), \quad (4)$$

где ω_0, δ – соответственно частота и декремент затухания, функция $\zeta(t)$ задает белый шум $\tau_{\text{corr}}^\zeta \ll \frac{1}{2\delta}$:

$$\langle \zeta \rangle = 0, \quad \langle \zeta(t)\zeta(t') \rangle = 2D\delta(t - t'), \quad D = \frac{k_B T}{m2\delta}, \quad (5)$$

D – коэффициент диффузии Эйнштейна [9], m – масса частицы, T – температура, k_B – константа Больцмана. Одномерное равновесное решение уравнения Фоккера–Планка для системы (4):

$$f(\xi) = \int f dv = \left(\frac{\omega_0^2}{\pi D \delta} \right)^{1/2} \exp \left\{ -\frac{\omega_0^2 \xi^2}{\delta D} \right\}, \quad (6)$$

дисперсия:

$$\sigma_\xi \int \xi^2 f d\xi = \frac{1}{2} \left(\frac{\delta D}{\omega_0^2} \right) \omega_0 \in (10^{11} \div 10^{15}) \text{ c}^{-1}, \quad (7)$$

$$\delta \approx 10^{11} \text{ c}^{-1}, \quad \sqrt{\sigma_\xi} \in (0.1 \div 2) \text{ Å}.$$

Можно также в нестационарном гамильтониане учесть влияние атома углерода субстрата C'(P1) на потенциал водородной связи (Ser195)O γ –H...N ϵ 2 (His57). В таком случае используется модель импульсного аддитивного воздействия

$$\hat{V}_0(\hat{r}) \rightarrow \hat{V}_0(r) + \hat{V}_\xi(r, t): \hat{V}_\xi(r, t) = r\xi(t) \sin(\Omega_e t + \varphi), \quad (8)$$

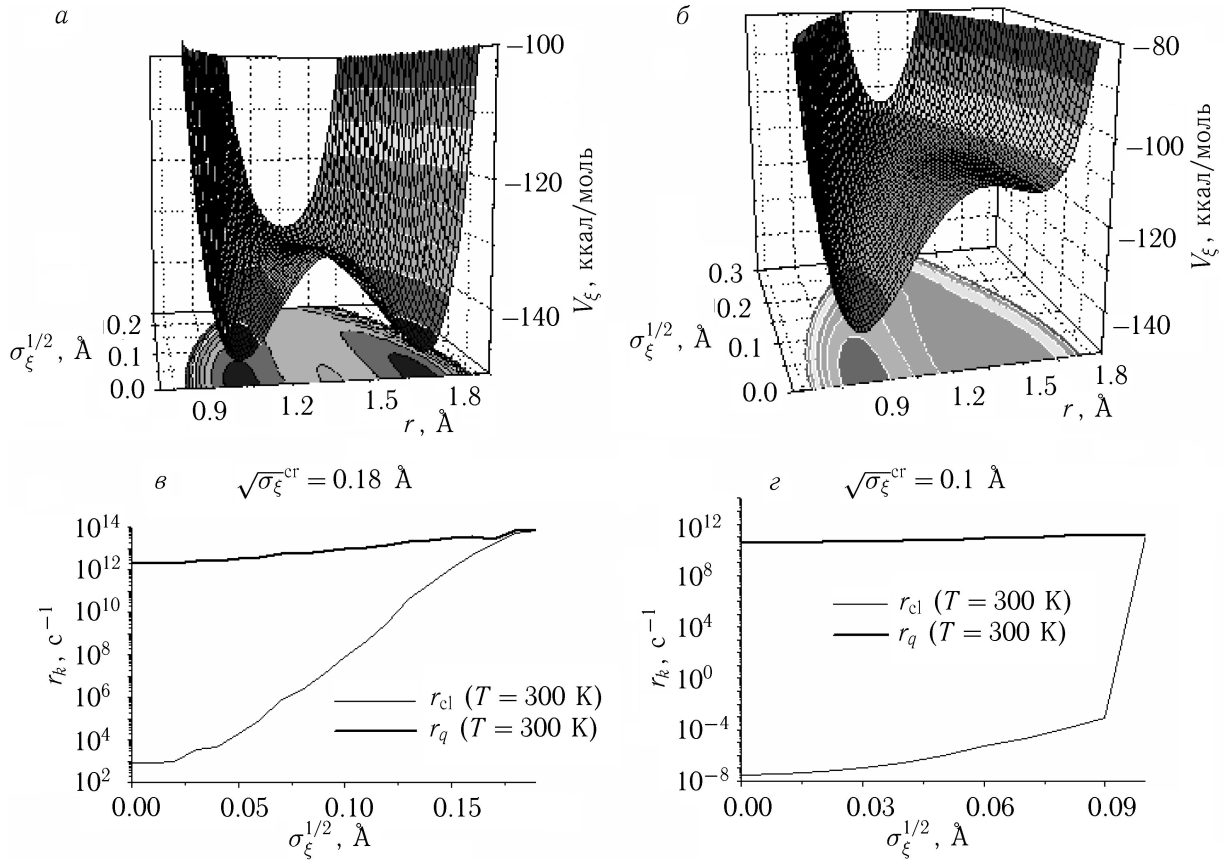


Рис. 3. Зависимость высоты барьера Q от корня дисперсии цветного шума $\sqrt{\sigma_\xi}$ в симметричном (а) и асимметричном (б) потенциале. Зависимость скорости перехода через барьер от корня дисперсии цветного шума $\sqrt{\sigma_\xi}$ в симметричном (в) и асимметричном (г) потенциале

где $\xi(t)$ — форма импульса [7]. Перед тем как рассмотреть динамику протона в связи (Ser195)O γ -H...N ϵ^2 (His57) квантовыми методами, проведем оценки скорости перехода через барьер на основе классической формулы Крамера [10]. Введем обозначения: высота барьера Q , вязкость η , частота колебаний на дне ямы $\omega \cong \sqrt{V_0(r)''|_{r=rA}/m_p}$, частота колебаний в окрестности верхней точки барьера $\omega' \cong \sqrt{-V_0(r)''|_{r=rC}/m_p}$, $V_0(r)$ — стационарный потенциал водородной связи (2), m_p — масса протона. Для небольших значений $Q/k_B T$ можно пользоваться квантовым распределением Гиббса вместо распределения Больцмана, что соответствует формальной замене [9]

$$k_B T \rightarrow k_B T_\omega: k_B T_\omega = \frac{1}{2} \hbar \omega' \operatorname{cth} \frac{\hbar \omega'}{2 k_B T}. \quad (9)$$

Формула Крамера [10] дает оценку для времени перехода через барьер ($T = 300$ K): в асимметричном потенциале $\tau_{cl} = 3 \cdot 10^8$ с, с учетом (9) $\tau_q = 3 \cdot 10^{-10}$ с и симметричном потенциале $\tau_{cl} = 1 \cdot 10^{-3}$ с и $\tau_q = 1 \cdot 10^{-12}$ с (рис. 2). Стохастическую кластерную динамику можно учесть заменой в формуле Крамера $V_0(r)$ на усредненный потенциал $\langle V(r, \xi) \rangle_\xi$, где $V(r, \xi)$ — нестационарный

потенциал (3) ($\beta_1 = a(r - r_0)$, $\beta_2 = a(r + r_0 - \Delta r)$, σ_ξ (7)):

$$\langle V(r, \xi) \rangle_\xi = U_0 \left[(\exp\{-2\beta_1\} + \exp\{2\beta_2\}) \exp(2a^2 \sigma_\xi) - 2(\exp\{-\beta_1\} + \exp\{\beta_2\}) \exp\left(\frac{a^2 \sigma_\xi}{2}\right) \right]. \quad (10)$$

В стохастическом потенциале существует критическое значение дисперсии $\sqrt{\sigma_\xi^{cr}}$, при котором эффективный барьер (рис. 3, а, б) исчезает. Происходит рост и выравнивание квантовой (9) и классической скоростей перехода протона через барьер (рис. 3, в, г). Температура T_0^ξ , разделяющая классический и квантовый режим,

$$T_0^\xi = \left\langle \frac{\hbar}{2\pi k_B} \sqrt{\frac{-V(r, \xi(t))''|_{r=rC}}{m_p}} \right\rangle_\xi. \quad (11)$$

В стационарном потенциале $T_0^\xi \approx 600$ K, в стохастическом потенциале $T_0^\xi \approx 400$ K. Диапазон параметров цветного шума (7) относится к квантовой области и области квантового некогерентного режима. Будем использовать для расчета волновой функции в гамильтониане (1) оператор эволюции

$\psi(t) = \hat{\mathbf{S}}(t)\psi(t_0) = \exp\left\{-i \int_0^t \hat{\mathbf{H}}(t) dt\right\}\psi(t_0)$ в приближенном симметризованном виде [5–8]:

$$\hat{\mathbf{S}}(\Delta t) \approx \exp\left[-\frac{i\hat{\mathbf{V}}\Delta t}{2}\right] \exp[-i\hat{\mathbf{P}}\Delta t] \exp\left[-\frac{i\hat{\mathbf{V}}\Delta t}{2}\right], \quad (12)$$

где Δt — временной шаг, $\hat{\mathbf{P}} = \hat{p}^2/2$, \hat{p} и $\hat{\mathbf{V}}$ — операторы импульса и потенциальной энергии соответственно. На основе (12) можно рассчитать вероятность туннелирования (корреляционная функция), среднюю координату и полную энергию протона:

$$P(t) = \langle \Psi(t=0) | \Psi(t) \rangle, \quad \bar{r}(t) = \int \Psi \hat{r} \Psi^+ dr, \quad (13)$$

$$\bar{E}(t) = \bar{V} + \bar{P} = \int \Psi \hat{V} \Psi^+ dr + \int \Psi \hat{P} \Psi^+ d\hat{p}.$$

При выборе численных параметров необходимо учитывать множество условий, которые должны соблюдаться в ходе численного эксперимента. Расчет волновой функции численно реализован с помощью технологий параллельного программирования на высокопроизводительном кластере НИВЦ МГУ (<http://parallel.ru>).

Результаты

В зависимости вероятности туннелирования от времени $P(t)$ (13) (рис. 4, а) можно выделить следующие области: 1) область, которую будем обозначать V^+ , где расстояние между минимумами (и высота барьера) уменьшается, т. е. $\xi(t) > 0$; 2) область, которую будем обозначать V^- , где расстояние между минимумами (и высота барьера) увеличивается, т. е. $\xi(t) < 0$. Каждая из областей содержит туннель-

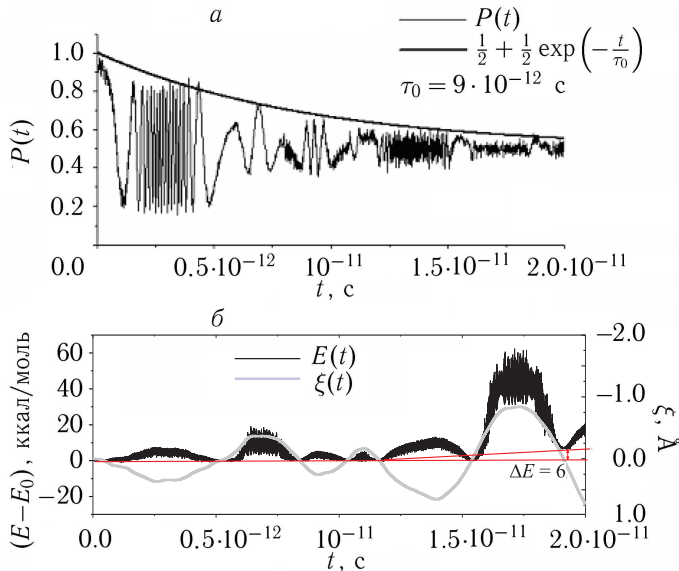


Рис. 4. Зависимость корреляционной функции от времени (а) и полной энергии протона (б) во флуктуирующем по закону цветного шума потенциале $V_0(r, \xi)$. Параметры цветного шума $(\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0) = (0.18 \text{ \AA}, 1 \cdot 10^{12} \text{ Гц})$

ные переходы разной частоты $\{\Omega_{\pm m}^{ii}\}$. Индекс \pm обозначает частоту в V^\pm -потенциале соответственно, i — номер туннельного уровня. Частоты с $m > 0$ определяют динамику протона в нестационарном потенциале (3) $V_\xi(r, \xi(t))$, в стационарном потенциале (2) $m = 0$. Частоты $\Omega_{\pm m}^{ii}(\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0)$ можно определить по следующей формуле, аналогичной формуле расчета квазиэнергетических состояний Флоке в периодическом поле [11], но с ограниченным контуром частот:

$$\Omega_{\pm m}^{ii}(\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0) = \Omega_{\pm 0}^{ii}(\sqrt{\sigma_\xi}) \mp m\hbar\omega_0, \quad (14)$$

$$m = 0, 1, \dots, \frac{\Omega_{\pm 0}^{ii}(\sqrt{\sigma_\xi})}{\omega_0}.$$

Зависимость вероятности туннелирования от времени (рис. 4, а) можно характеризовать областью изменения функции $P(t)$ в (V^+) - и (V^-) -областях: ΔP_+ и ΔP_- . Параметры ΔP_+ и ΔP_- могут изменяться в пределах $[0, 1]$ (рис. 5) в зависимости от выполнения условий на параметры цветного шума $\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0$ (15):

$$1^+) \Delta P_+ = 1, \text{ если } \omega_0 < \Omega_{+0}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi}), \sqrt{\sigma_\xi} < 0.1 \text{ \AA};$$

$$2^+) \Delta P_+ < 1, \text{ если } \omega_0 > \Omega_{+0}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi}), \sqrt{\sigma_\xi} < 0.1 \text{ \AA};$$

$$3^+) \Delta P_+ \rightarrow \frac{1}{2}, \text{ если } \sqrt{\sigma_\xi} > 0.1 \text{ \AA}; \quad (15)$$

$$1^-) \Delta P_- = 1, \text{ если } \begin{cases} \text{а) } \frac{\omega_0}{2} \leq \Omega_{-0}^{ii}, i = 1, 2, \dots, \\ \text{б) } \Omega_{-0}^{ii}(\sqrt{\sigma_\xi}) \leq \omega_0, i \neq 1; \end{cases}$$

$$2^-) \Delta P_- < 1, \text{ оставшая область значений } (\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0).$$

На рис. 5. области А, В, С, D, Е, F, G характеризуют поведение $P(t)$.

А. Адиабатическая. В области (V^+) частота туннелирования увеличена: $\Omega_{+m}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi}) > \Omega_{00}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi} = 0)$, в (V^-) -области уменьшена: $\Omega_{-m}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi}) < \Omega_{00}^{11}(\sqrt{\sigma_\xi} = 0)$. $\Delta P_\pm = 1$.

Д. Характеризуется чередованием быстрого изменения корреляционной функции в (V^+) -области ($\Delta P_+ = 1$) и медленного в (V^-) -области ($\Delta P_- \ll 1$). Происходит локализация протона на определенное время ΔT . Частица может локализоваться как в одной и той же яме, так и попеременно то в одной яме, то в другой в зависимости от параметров $\sqrt{\sigma_\xi}, \omega_0$.

В. В (V^+) -области все туннельные уровни лежат выше барьера ($\Delta P_+ < 1$), в (V^-) -области набор частот соответствует высшим состояниям $\{\Omega_{\pm m}^{ii}\}$, $i > 1$, $\Delta P_- = 1$.

С. Аналогично В, но область изменения корреляционной функции $\Delta P_{\pm} < 1$.

Е, F. Высокочастотная область. Частота туннелирования увеличена. В области E ($\Delta P_{\pm} < 1$) существуют узкие полосы резонансов F с межуровневыми переходами.

Г. Эффект вибрационной релаксации к уровню $\frac{1}{2}$ доминирует над туннелированием. Релаксация сопровождается ростом полной энергии протона $E(t)$ (рис. 4, б).

+. В этой области амплитуда внешнего сигнала

велика и расстояние между атомами (Ser195)O и N(His57) мало в (V^+)-области. Энергия протона возрастает намного быстрее, чем в области Г.

В области параметров шумового поля (7) соответствующей области нормального функционирования α -химотрипсина квантовую динамику протона можно отнести к D, B, C (рис. 5). В области D время установления равнораспределения протона между ямами $\tau_{cl} \approx 10^{-7}$ с $\gg \tau_q \approx 10^{-12}$ с. В областях B, C квантовые и классические эффекты вносят одинаковый вклад, и $\tau_{cl} \approx 10^{-11}$ с $\approx \tau_q$. Положение

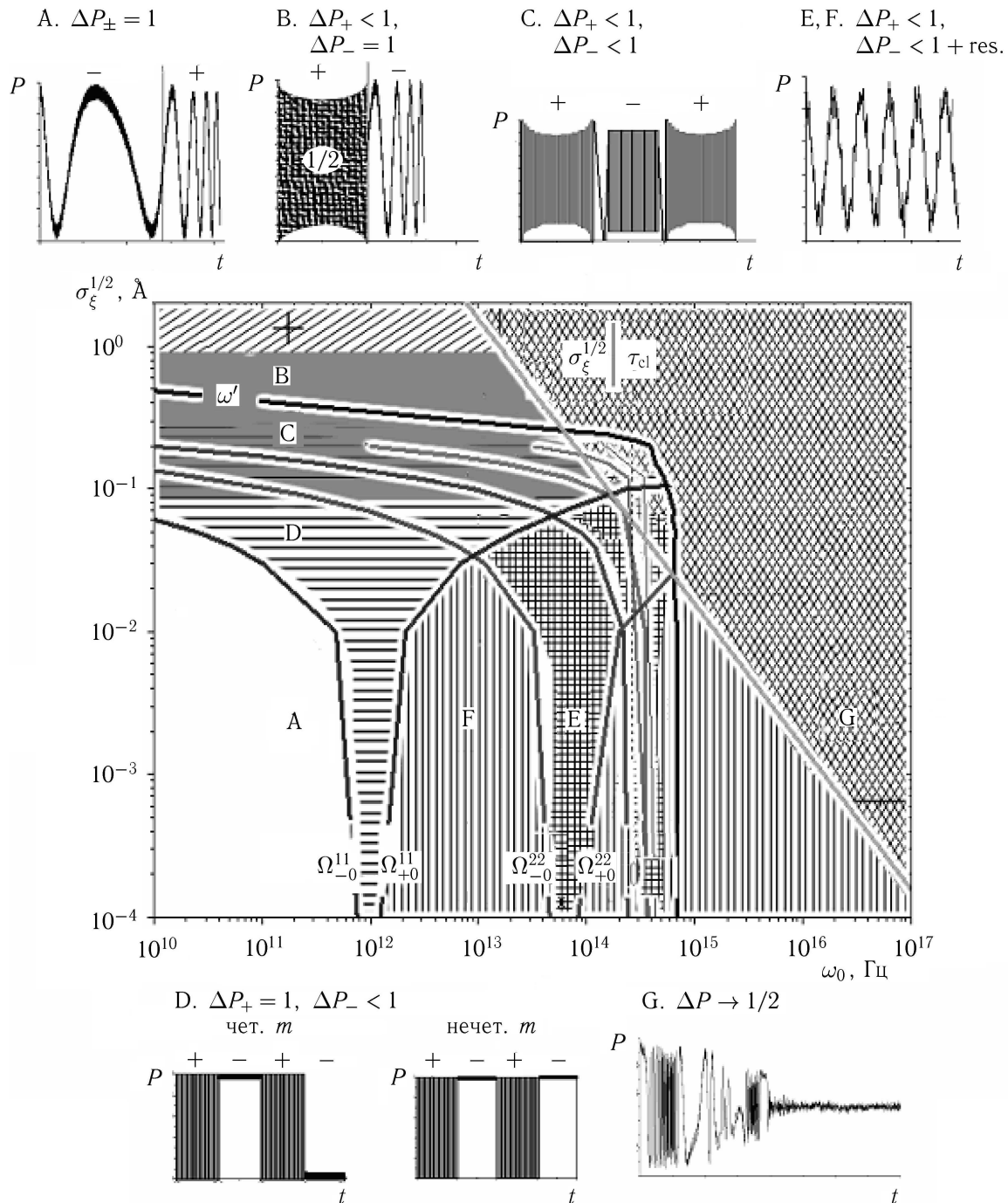


Рис. 5. Амплитудно-частотная характеристика отклика открытой системы + цветной шум (пояснение в тексте)

протона, соответствующее равномерному распределению протона между ямами, фиксировалось в эксперименте ЯМР-спектроскопии и соответствует установлению квазисимметричной низкобарьерной водородной связи (ЛНВ).

Заключение

Одно из важных динамических свойств пространственной структуры сериновых амидгидролаз состоит в том, что она служит для передачи в асимметричную водородную связь каталитического центра (Ser195)O–H...N(His57) процессов взаимодействия с окружением.

Расчет и анализ временной эволюции квантовой открытой системы показали, что в системе реализуются те динамические режимы, в которых происходит равномерное распределение протона в водородной связи (ЛНВ-режимы).

Временной диапазон, в котором происходит в естественных условиях переход протона: $\tau \in (10^{-12}, 10^{-7})$ с.

Авторы благодарят А. Ю. Чикишева, Б. А. Гришанина и А. А. Кубасова за плодотворное сотрудничество и Д. С. Чернавского за стимулирующие дискуссии, а также всех сотрудников Лаборатории параллельных информационных технологий НИВЦ МГУ, обеспечивших доступ к высокопроизводительному вычислительному кластеру.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Ведущие научные школы России» (грант NS-2071.2003.4), Междисциплинарного проекта МГУ (2005) и РФФИ (грант 05-03-32880).

Литература

1. Антонов В.К. Химия протеолиза. М., 1983.
2. Попов Е.М. Структура и функция белка. Т. 4. М., 2000. С. 261–308.
3. Чернавский Д.С., Чернавская Н.М. Белок-машина. Биологические макромолекулярные конструкции. М., 1999.
4. Чернавский Д.С., Хургин Ю.И., Шноль С.Э. // Молекулярная биофизика. 1987. **20**, № 5, С. 1356.
5. Grishanin B.A., Chikishev A.Yu., Romanovsky Yu.M., Shuvalova E.V. // Stochastic Processes in Physics, Chemistry and Biology: Lecture Notes in Physics / Eds. J.A. Freund, T. Poschell. V. 57. Springer, 2000. P. 338–349.
6. Шувалова Е.В., Кубасов А.А., Романовский Ю.М., Чикишев А.Ю. // Изв. вузов. ПНД. 2000. **8**, № 5. С. 23.
7. Романовский Ю.М., Шувалова Е.В. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 2002. № 5. С. 38 (Moscow University Phys. Bull. 2002. N 5. P. 48).
8. Chikishev A.Yu., Grishanin B.A., Shuvalova E.V. // Stochastic Dynamics of Reacting Biomolecules / Eds. W. Ebeling, Yu. Romanovsky, L. Schimansky-Geier. Singapore, 2003. Ch. 8, P. 247.
9. Климонтович Ю.Л. Статистическая теория открытых систем. Т. 2. М., 1991.
10. Kramers H.A. // Physica. 1940. **2**. P. 284.
11. Grifoni M., Hanggi P. // Phys. Reports. 1998. **304**. P. 229.

Поступила в редакцию
10.02.06