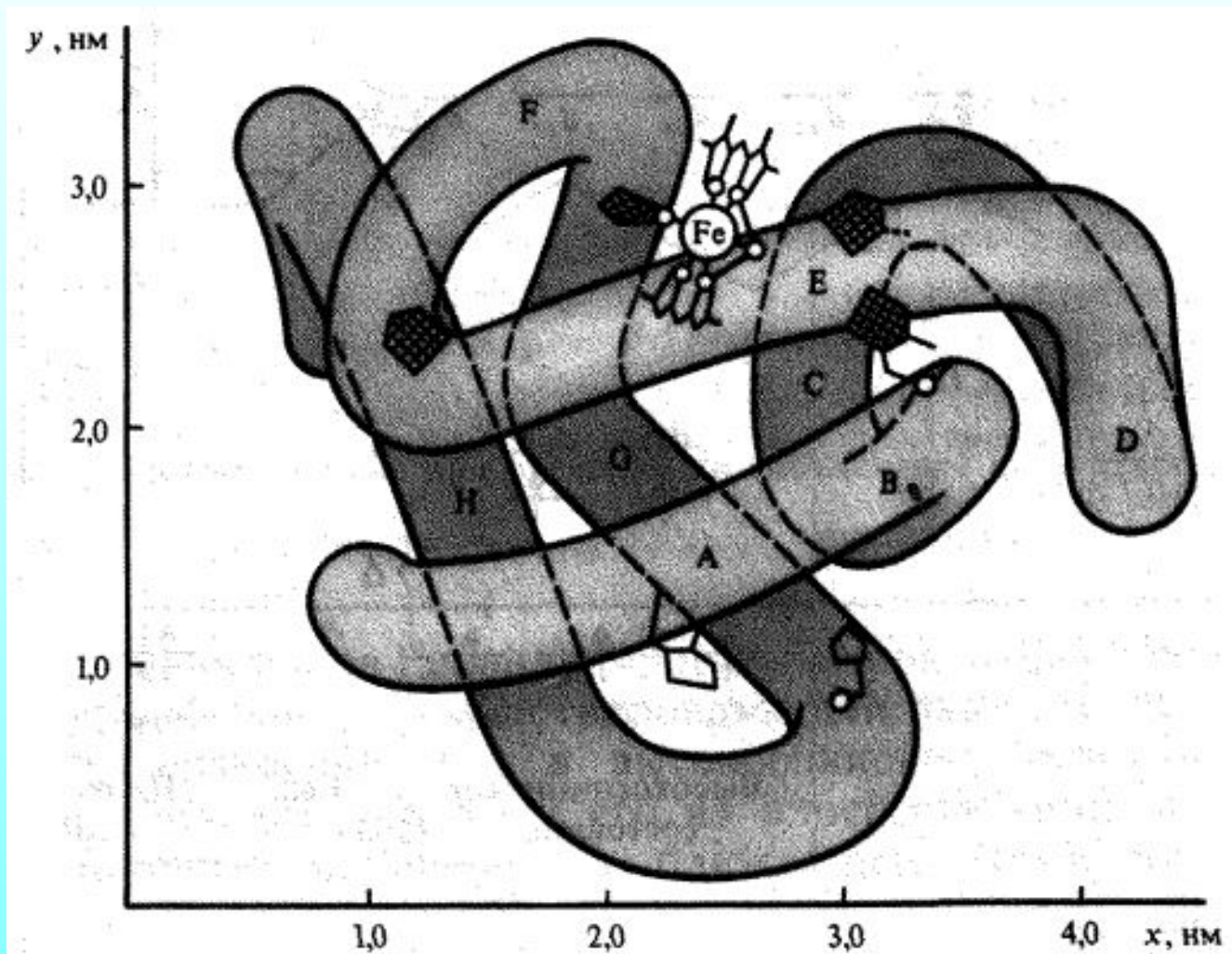
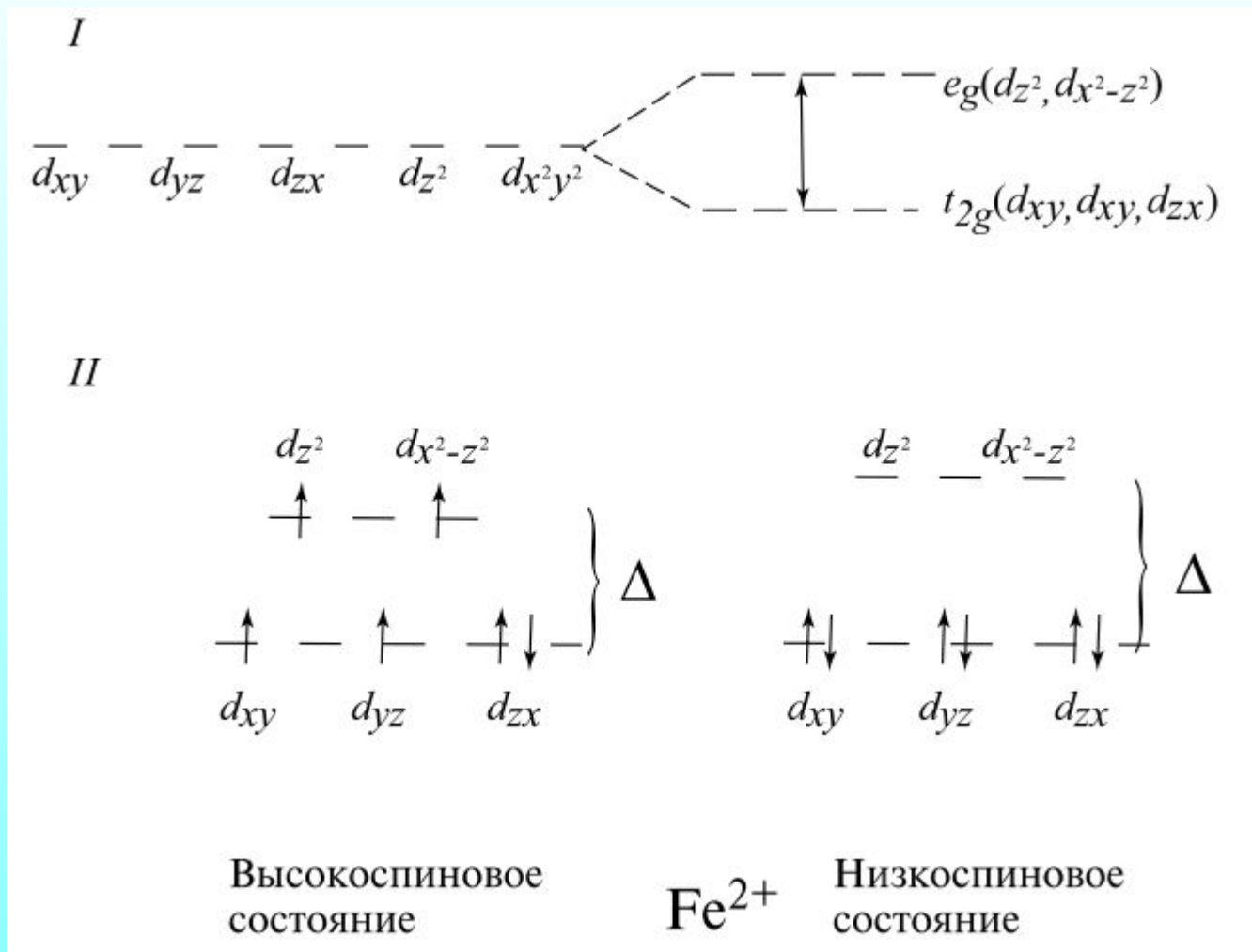


# Молекулярная биофизика

Динамика макромолекул

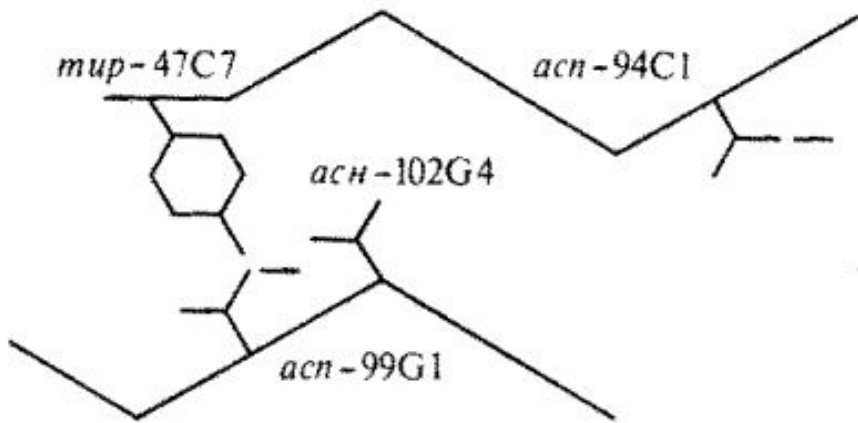


**Пространственная структура миоглобина (кашалота) в проекции ху**  
**Миоглобин (переносчик кислорода в мышцах) содержит один гем и**  
**одну полипептидную цепь, включающую 153 остатка, которые**  
**распределены в основном по 8  $\alpha$ -спиральным участкам (А — Н). Гем, в**  
**центре которого расположен атом Fe, находится между спиралями Е и F.**



**Расщепление d-орбиталей в октаэдрическом комплексе (I): и распределение d-электронов по орбиталям высокоспинового (расщепление  $\Delta$  мало) и низко спинового (расщепление  $\Delta$  велико) состояний иона  $Fe^{2+}$  (II)**

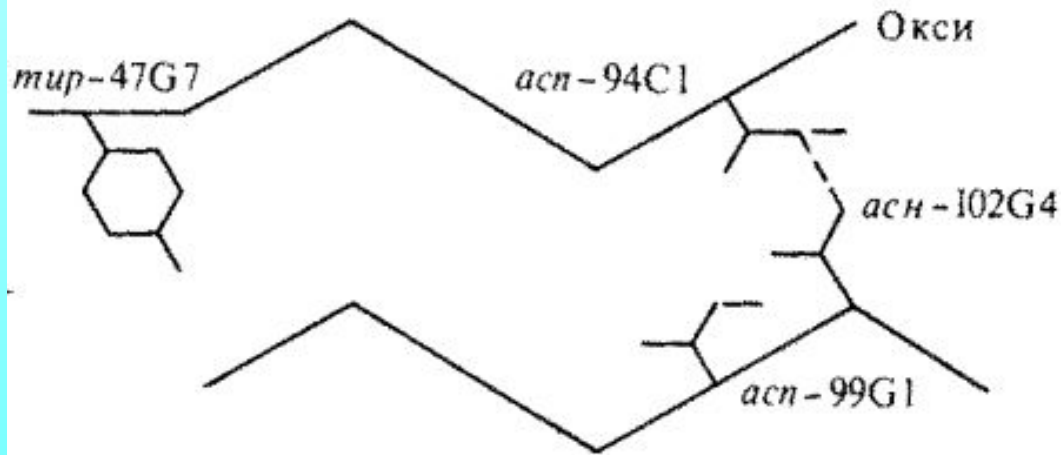
$\alpha$  – Субъединица



$\beta$  – Субъединица

**Структурные изменения, происходящие в гемоглобине при оксигенации (объяснение см. в тексте) (по Д. Мецлеру, 1980)**

$\alpha$  – Субъединица



$\beta$  – Субъединица

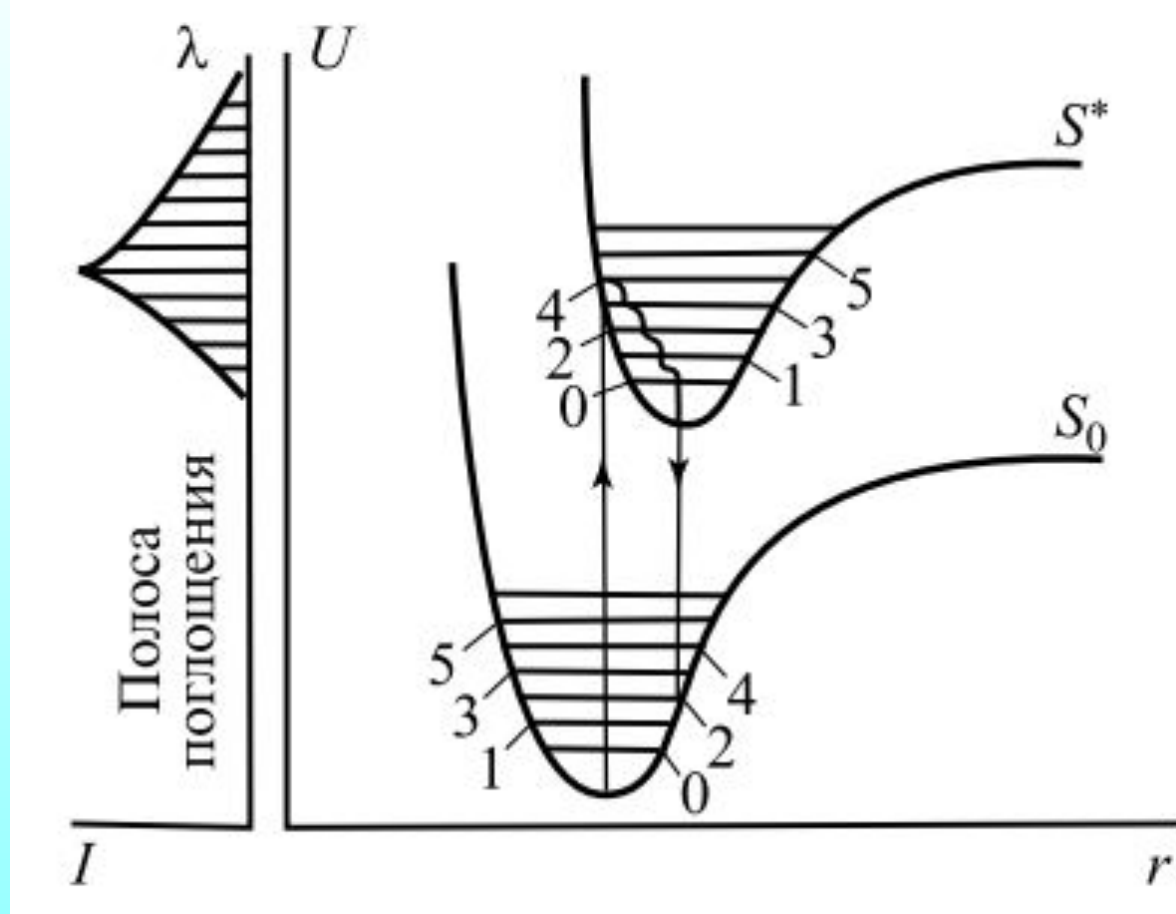
# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

Белки и нуклеиновые кислоты.

Методы изучения

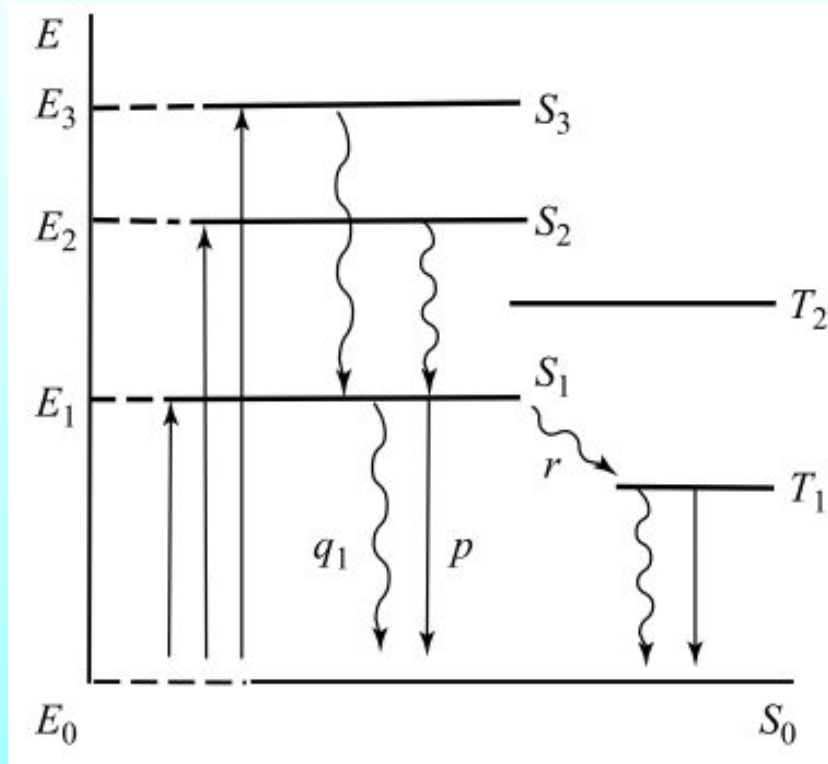
# Методы изучения подвижности белков

- Люминесцентные методы
- ЭПР
- ЯМР
- ЯГР спектроскопия
- Метод изотопного обмена



**Кривые потенциальной энергии основного ( $S_0$ ) и синглетного возбужденного ( $S^*$ ) состояний двухатомной молекулы:**

**$U$  — потенциальная энергия;  $r$  — межъядерное расстояние;  $I$  — интенсивность поглощения;  $\lambda$  — длина волны; 0-5 — колебательные подуровни ядерных состояний**



Электронные уровни органической молекулы и переходы между ними (схема Яблонского):  $p$  — вероятность переходов в единицу времени на основной уровень с испусканием флуорисценции,  $q_1$  — то же, без излучения;  $r$  — вероятность конверсии и триплетное состояние.

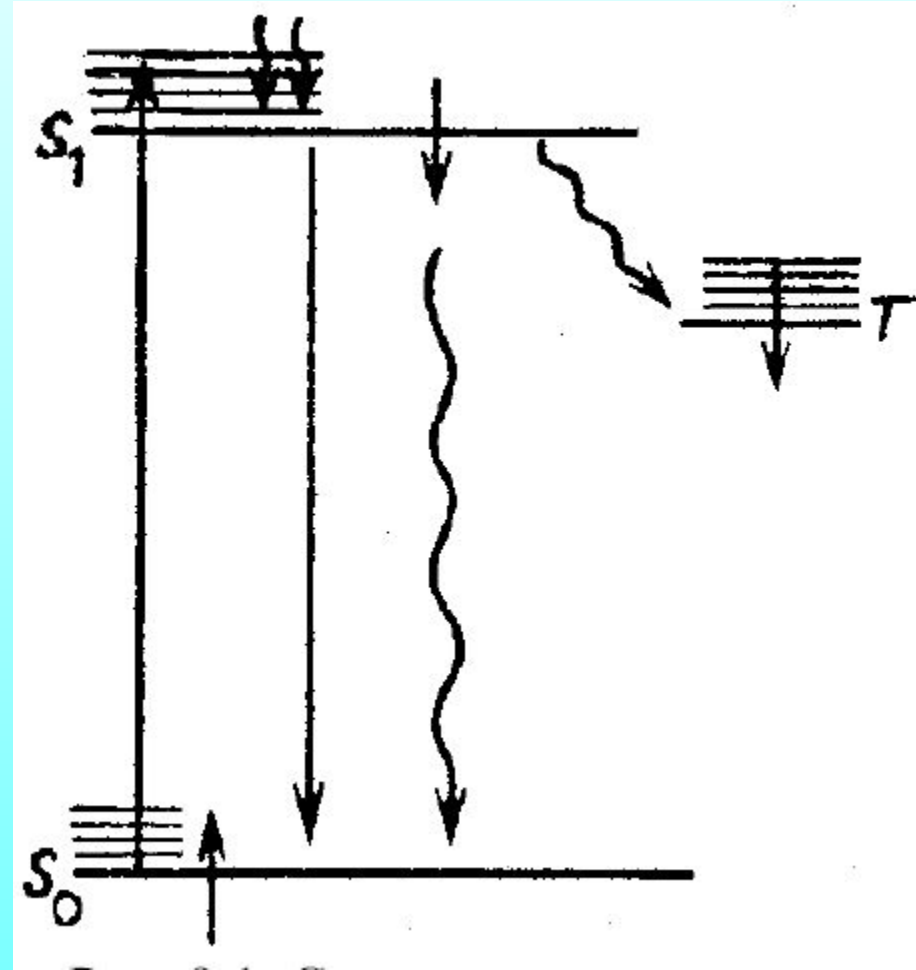
Молекула обладает системой триплетных  $T_1, T_2, \dots$  и синглетных возбужденных уровней  $S_1, S_2, \dots, S_n$ . При переходе на один из высших возбужденных синглетных уровней избыток энергии быстро ( $10^{-12}$  с) диссипирует; молекула попадает на низший возбужденный синглетный уровень  $S_1$ , с которого и происходит переход ( $S_1 \rightarrow S_0$ ) или внутримолекулярная конверсия ( $S_1 \rightarrow T_1$ ). Суммарная вероятность ( $P$ ) дезактивации определяется суммой величину,  $q_1, r$ :

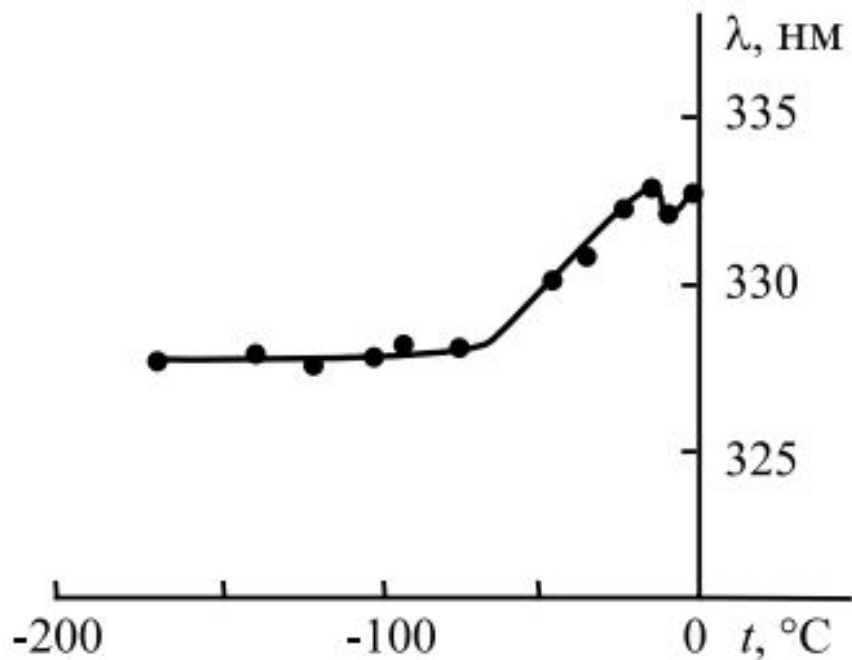
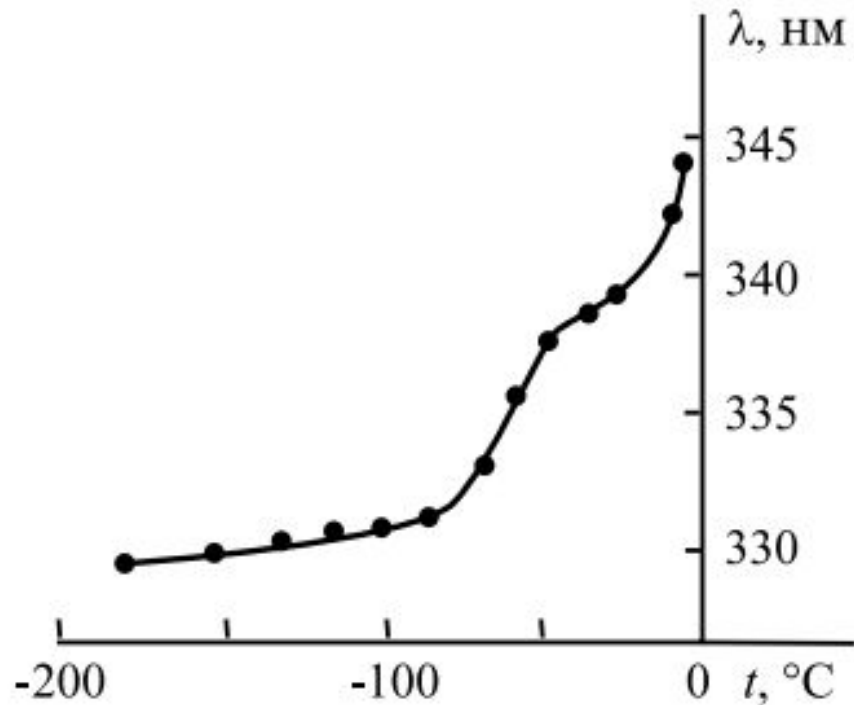
$$P = p + q_1 + r$$



# Люминесцентные методы

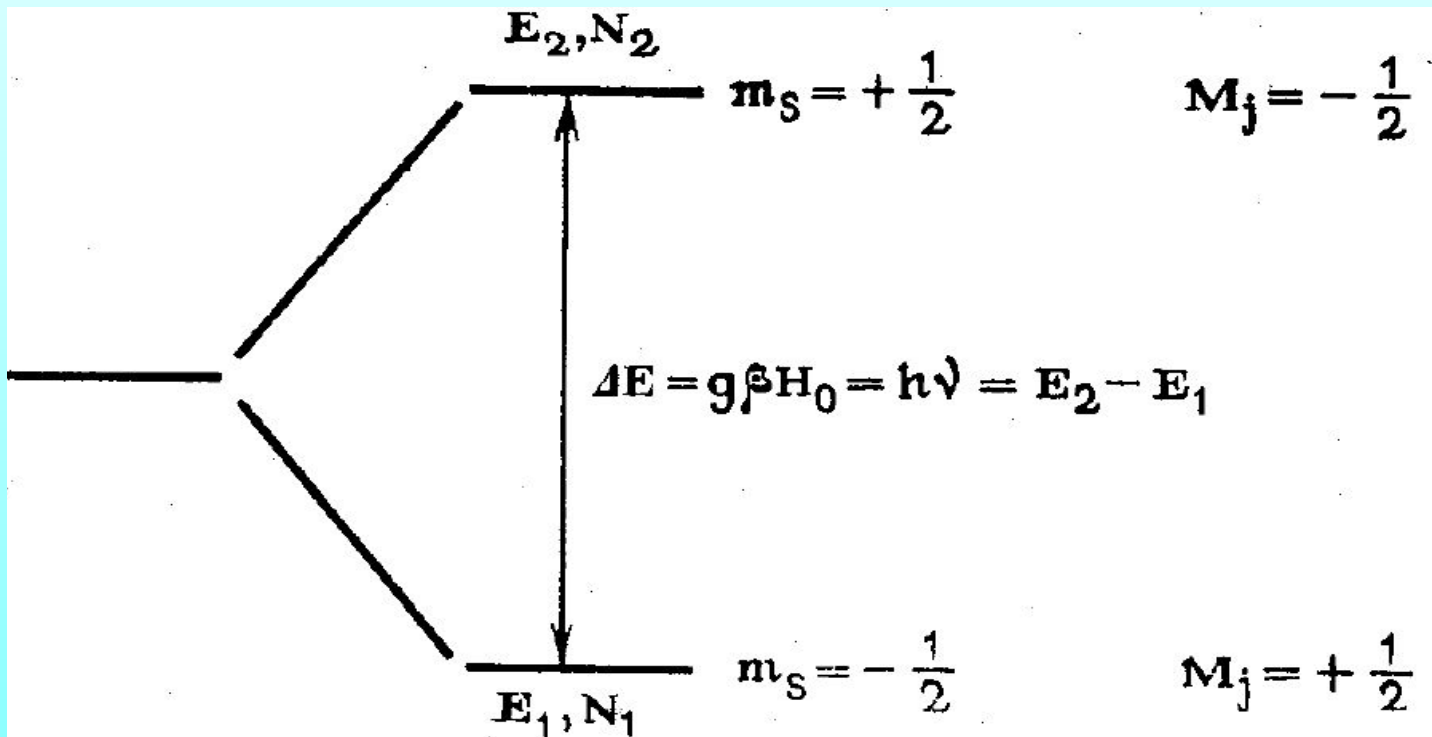
- Измерение внутримолекулярной подвижности белка по зависимости положения максимума люминесценции метки, введенной в белок, либо собственной люминесценции триптофана белка от температуры
- Характеристика подвижности окружения метки
- $t = 10^{-2} - 10^{-6}$  с
- $\tau = 10^{-1} - 10^{-2}$  с
- $\tau^* = 10^{-8} - 10^{-9}$  с



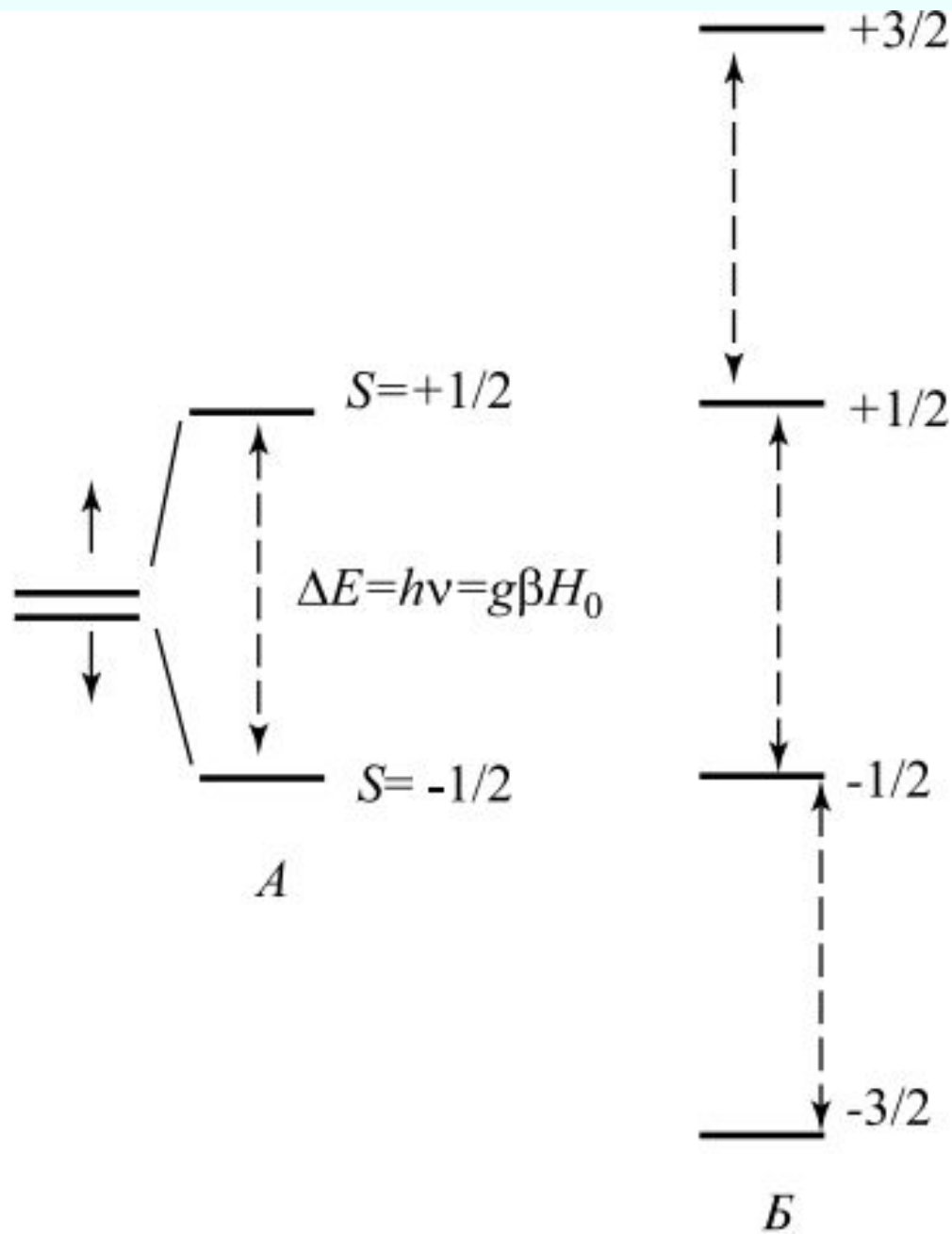
*I**II*

**Зависимость положения спектра флуорисценции водного раствора (3-лактоглобулина (I) и нейротоксина II кобры (II) от температуры при рН 6,5 (по Е. А. Пермякову, 1977)**

# Методы радиоспектроскопии ЭПР и ЯМР

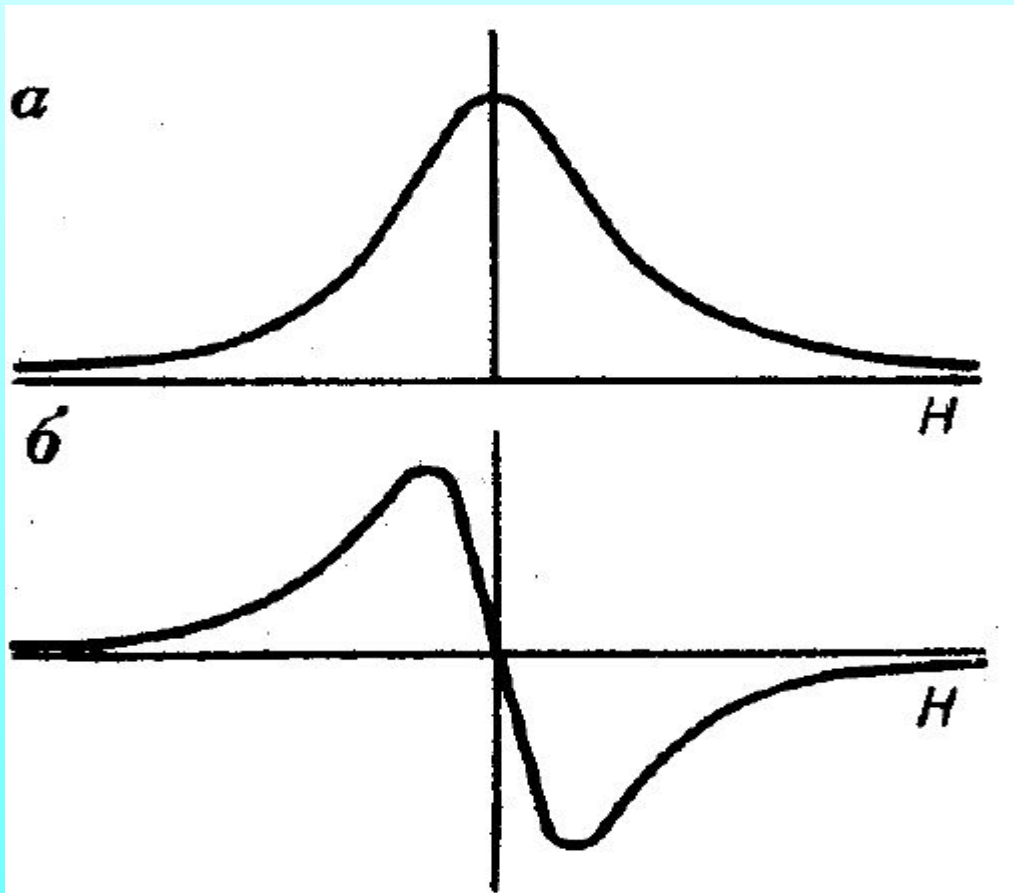


Расщепление энергетических уровней  
электрона (протона) в магнитном поле (H)



**Энергетические уровни электрона в магнитном поле. А — один электрон (спин 1/2); Б — три электрона (максимальное значение спина 3/2;**

# Линия поглощения СВЧ- а) поля б) ее первая производная



Ось абсцисс — величина постоянного магнитного поля  $H$ , которая плавно меняется при постоянной частоте СВЧ-поля до достижения значений, соответствующих условию резонансного поглощения

# Линия резонанса ЭПР

- Ширина:  $\Delta H \cong \frac{1}{2T_1} + \frac{1}{T_2}$
- $T_1$  – время передачи энергии окружающей среде
- $T_2$  – время спин-спинового взаимодействия

Для свободных радикалов:  $T_1 \gg T_2$   
$$\Delta H \cong \frac{1}{T_2}$$

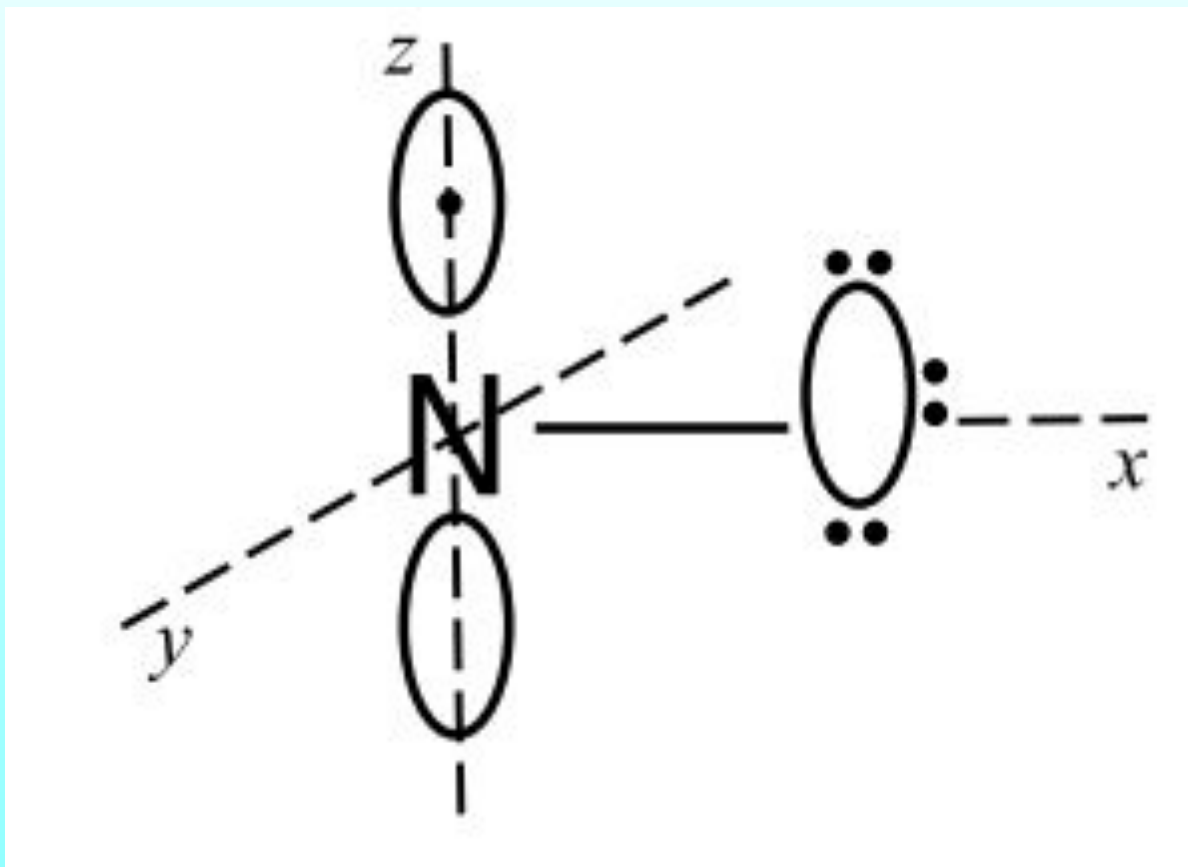
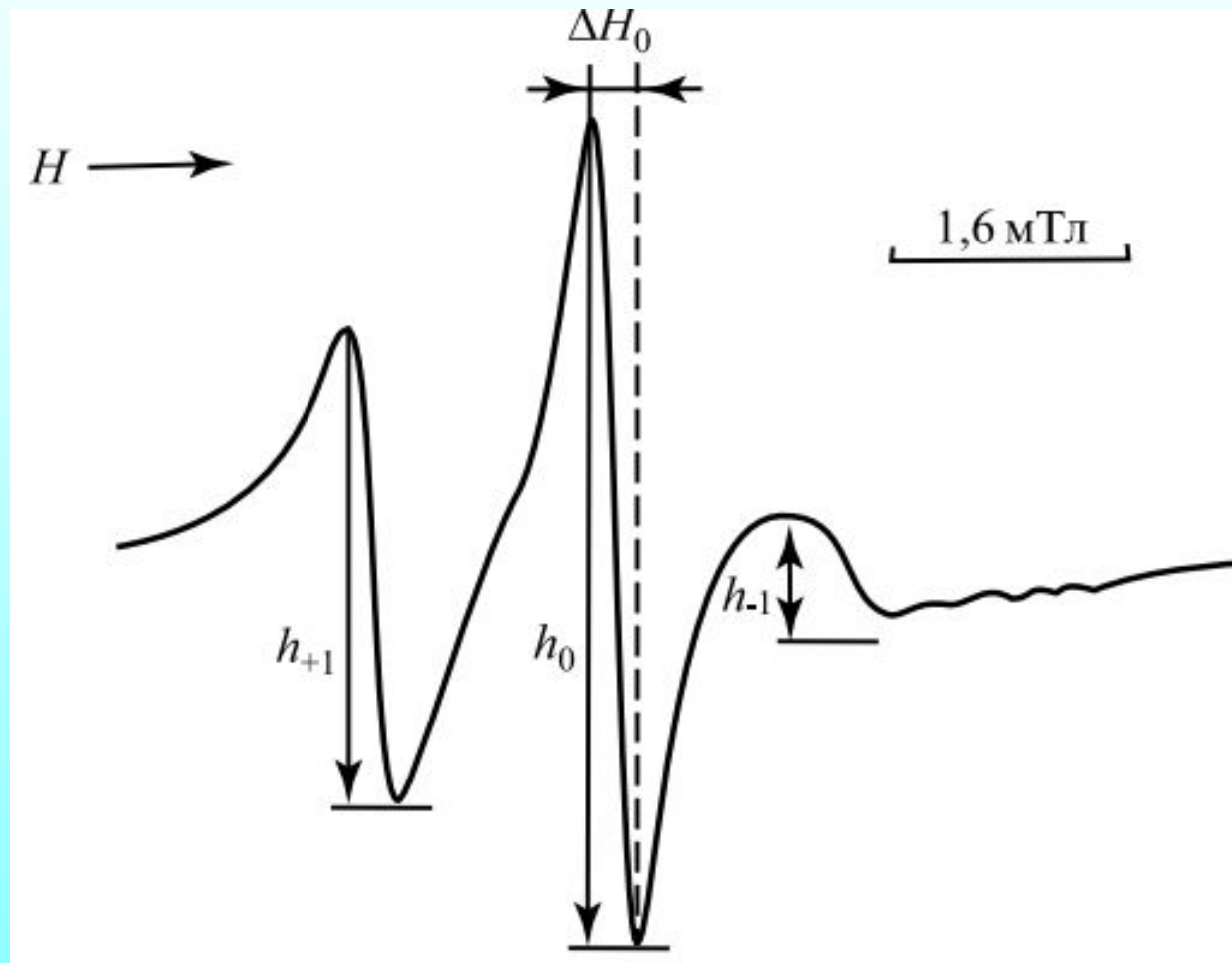


Схема парамагнитного фрагмента  
нитроксильного радикала



Спектр ЭПР парамагнитной метки, присоединенной к *гис*-15 лизоцима (рН 7,0;  $t=26^\circ\text{C}$ ) (по Г.И. Лихтенштейну, 1971):

$h_{-1}$ ,  $h_0$ ,  $h_{+1}$  — интенсивность компонентов, соответствующих  $M = -1; 0; +1$ ;  $\Delta H_0$  — ширина центрального компонента



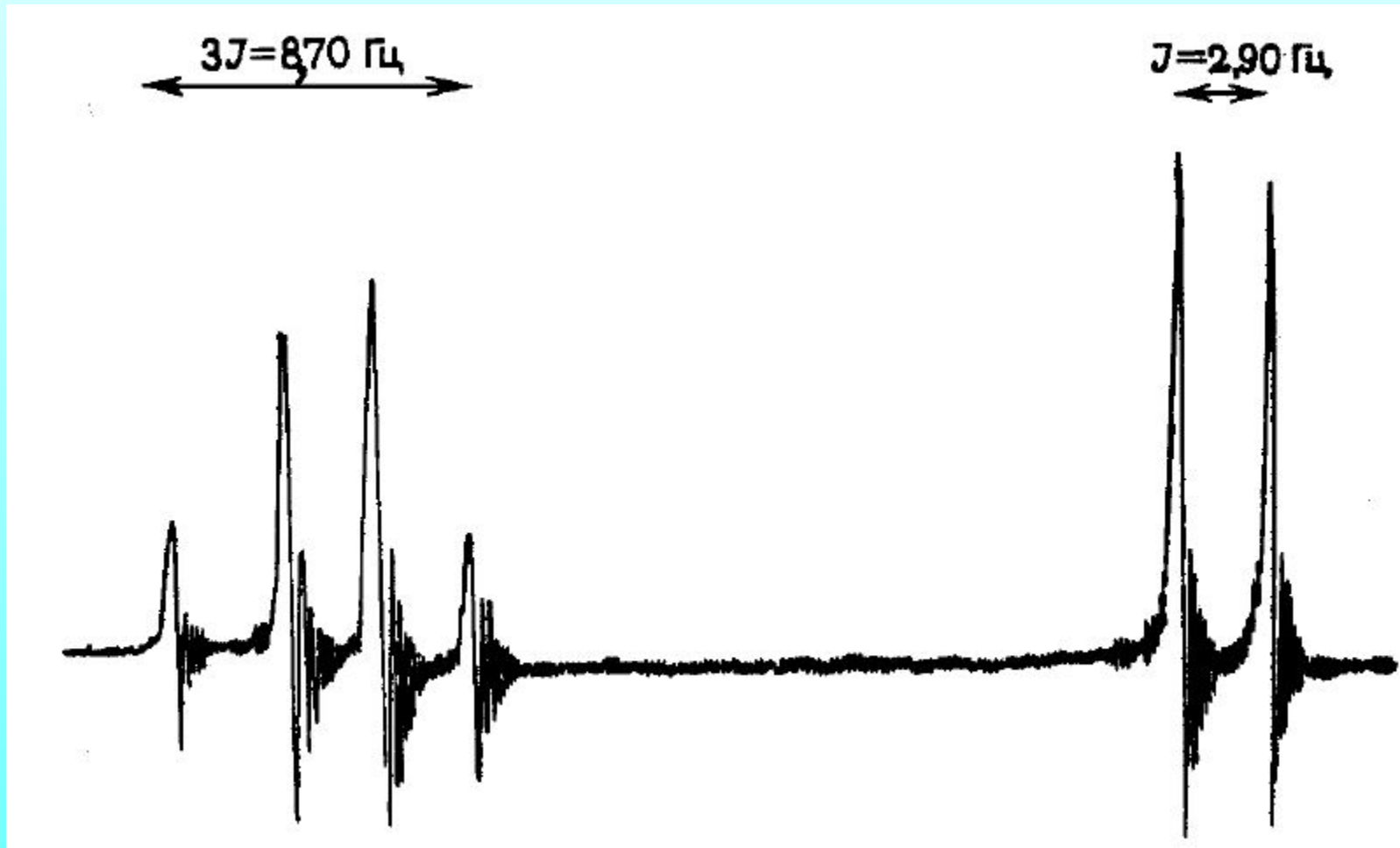
# ЯМР-спектроскопия

- Измерение времени релаксации  $T_1$  и  $T_2$  по ширине линии резонанса.
- Определение времени вращения метки, на которой наблюдается резонанс
- Оценка подвижности белковых структур в состав которых входят «резонирующие» протоны
- Изучение некоторых видов внутримолекулярного движения в белках
- Информация о химической структуре молекулы

# Спектр ЯМР ацетальдегида



по А.Керрингтону, Э. Мак-Лечлану, 1970



CHO

химический сдвиг

# ЯГР спектроскопия

- Дает информацию не только о временных, а также амплитудных характеристиках движений в белке (средние величины смещений атомов в структуре белка за  $t=10^{-7}-10^{-9}$  с)

Основан на резонансном поглощении  $\gamma$ -квантов тяжелым ядром атома

Эффект Мёссбауэра

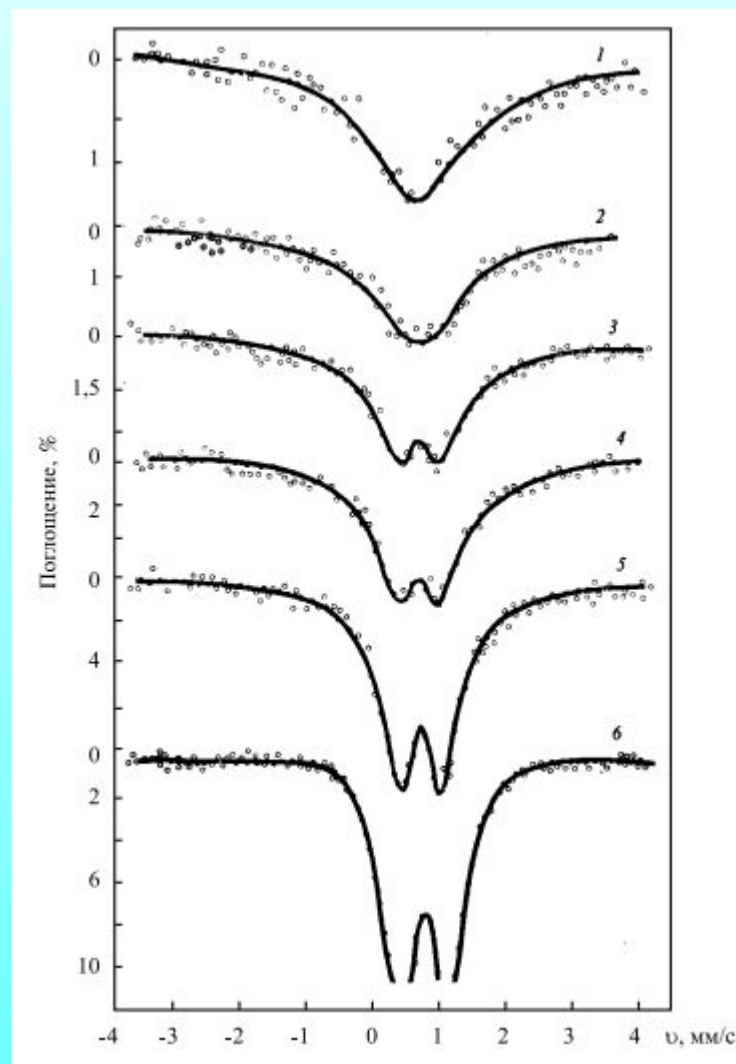
# Эффект Мёссбауэра

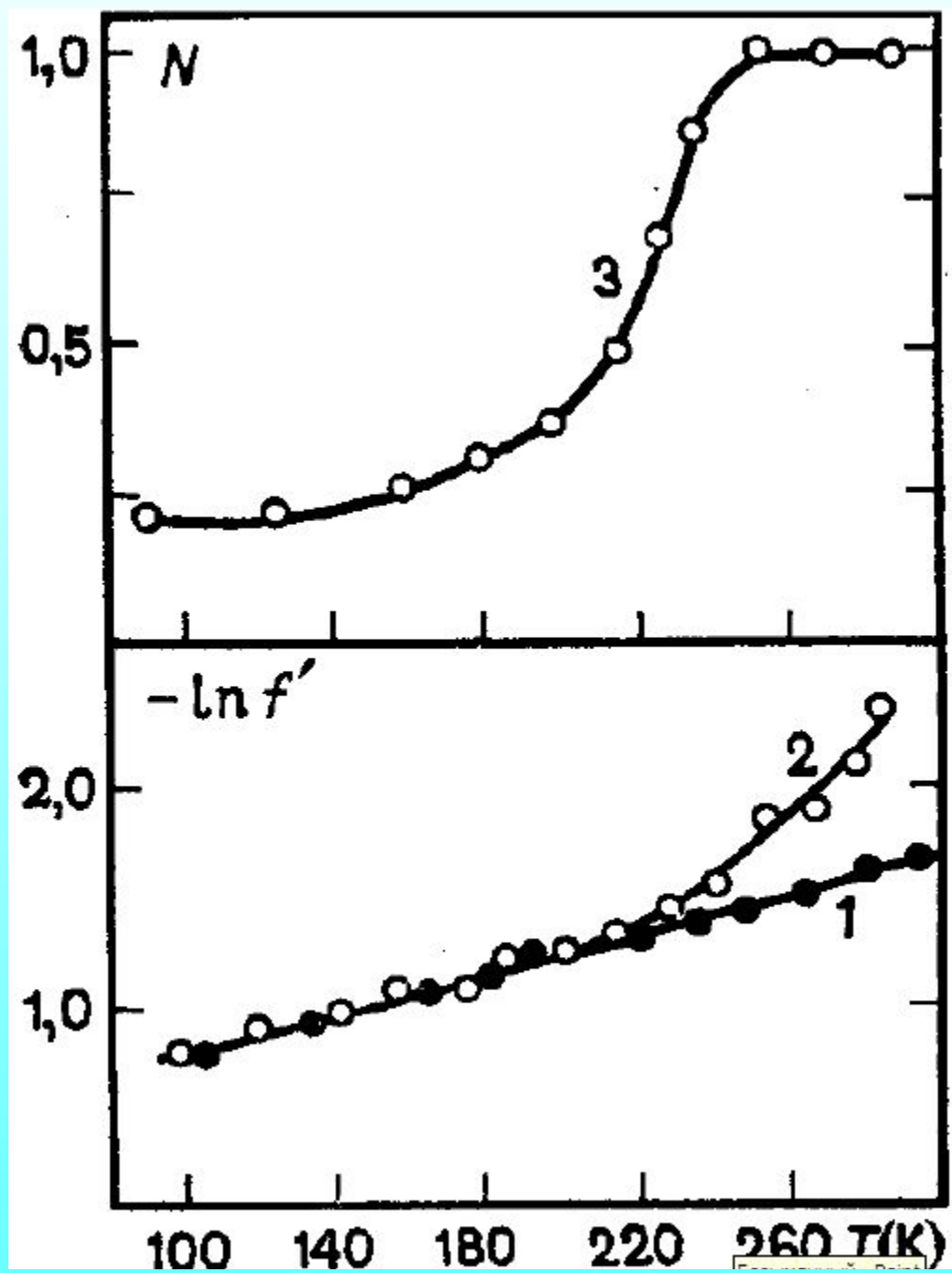
$$f' = e^{-x^2/\tilde{\lambda}}$$

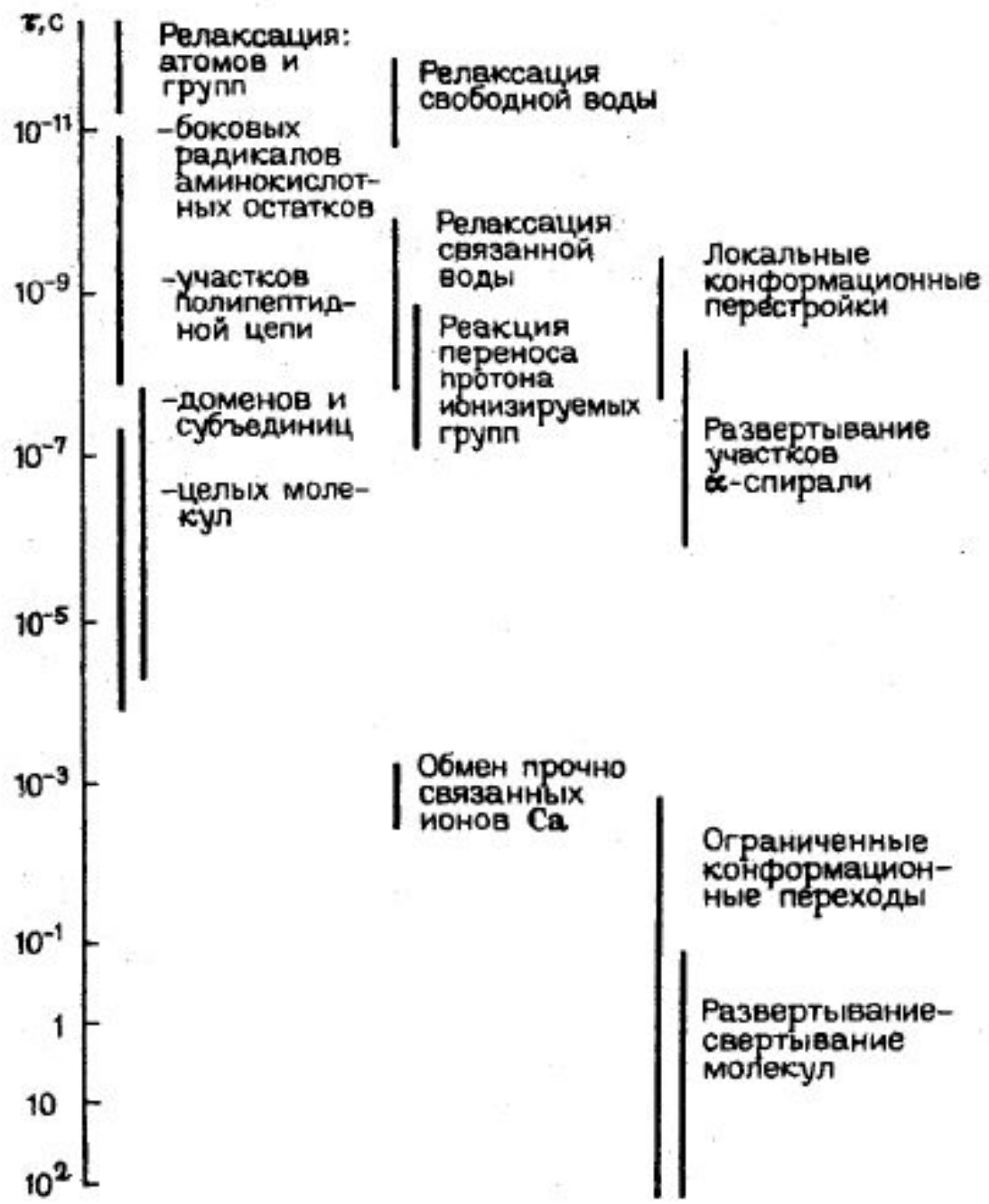
$$\tilde{\lambda} = \lambda/2\pi$$

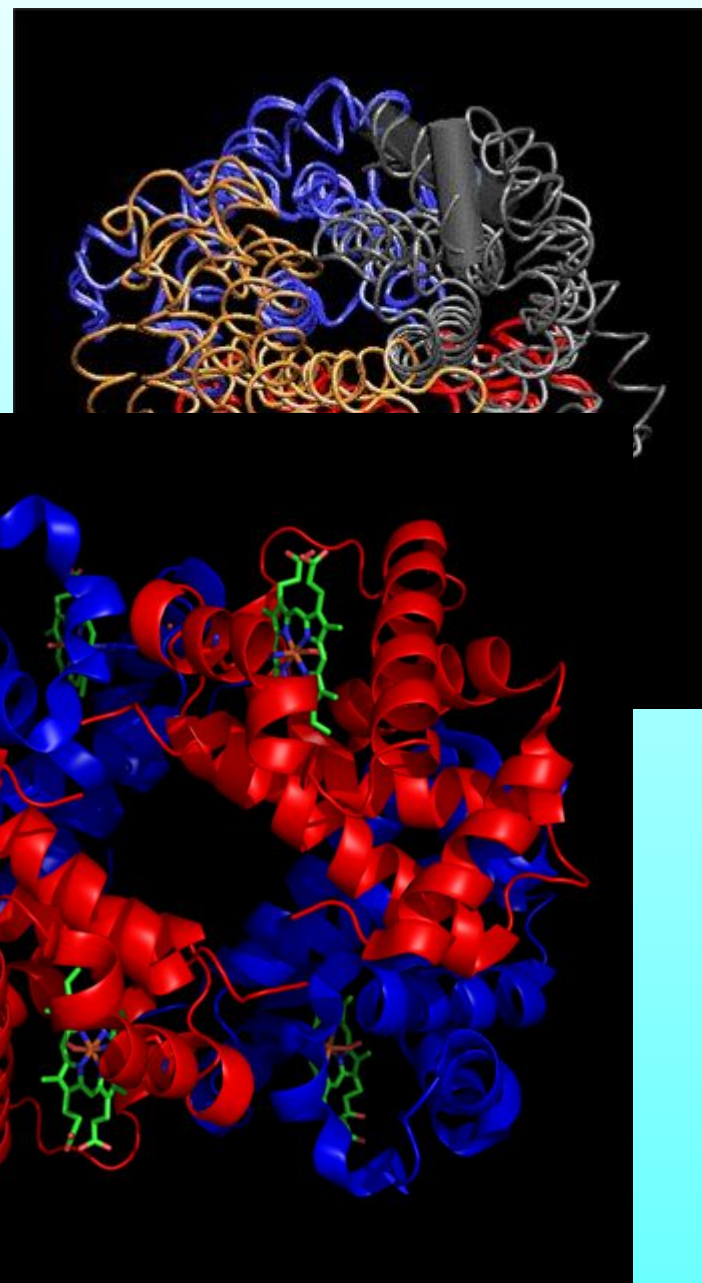
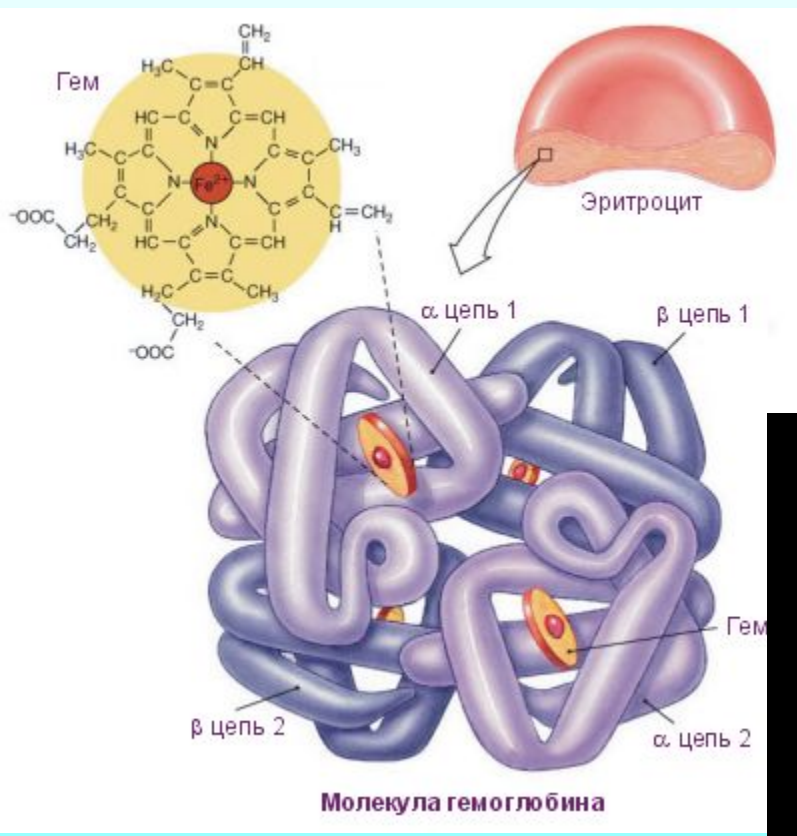
$$\tilde{\lambda} = 0,13 \text{ \AA} \text{ для } ^{57}\text{Fe}$$

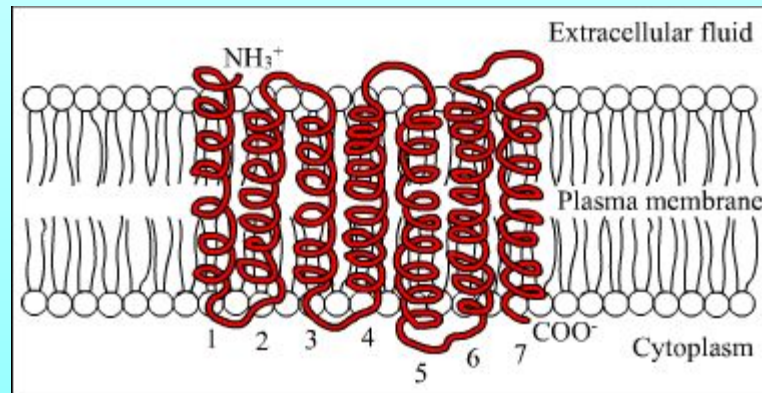
Уширение спектра обусловлено диффузией молекул белка.  
Изменение частоты уширения пропорционально скорости источника ( $v$ )





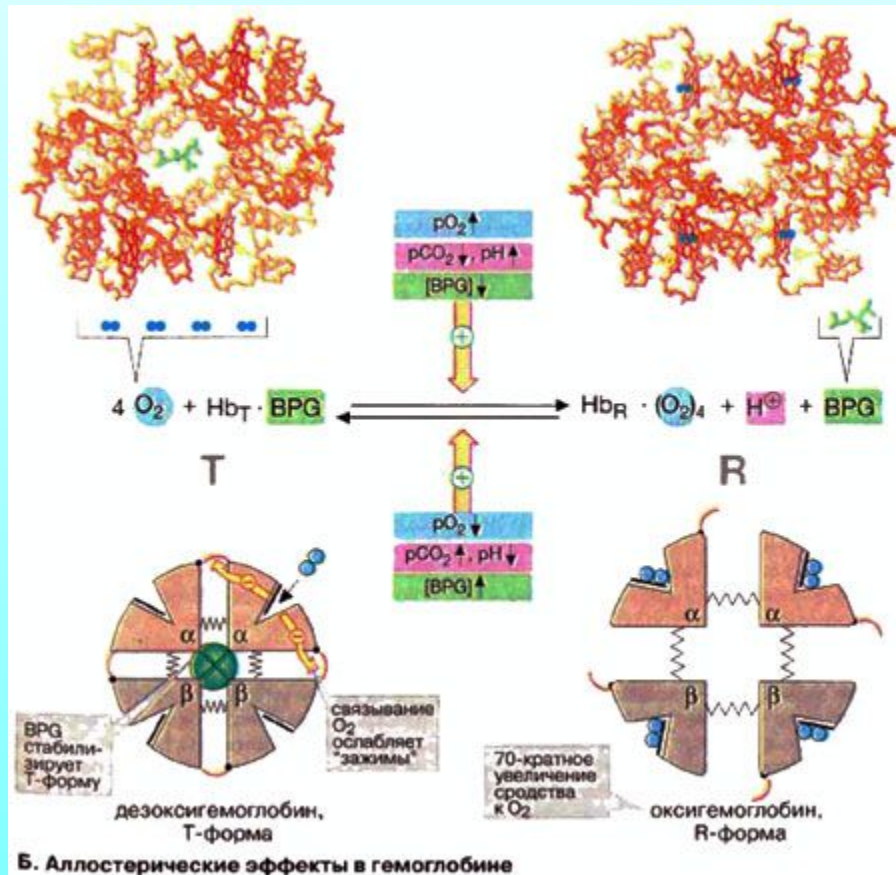




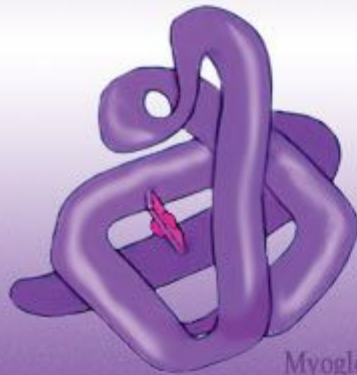


**Picture of G-Protein Receptor Family 7 TM  
Transmembrane Domains**

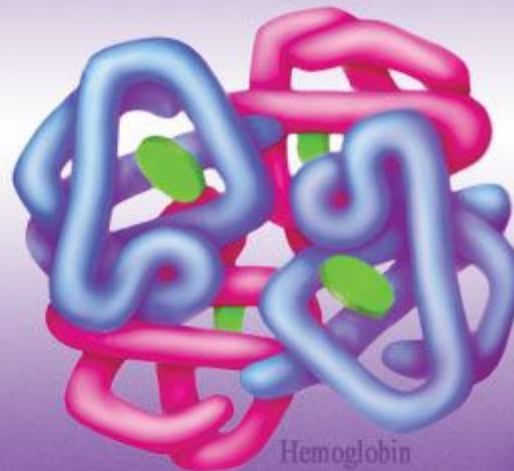




## TWO MARVELS OF CREATION: MYOGLOBIN AND HEMOGLOBIN

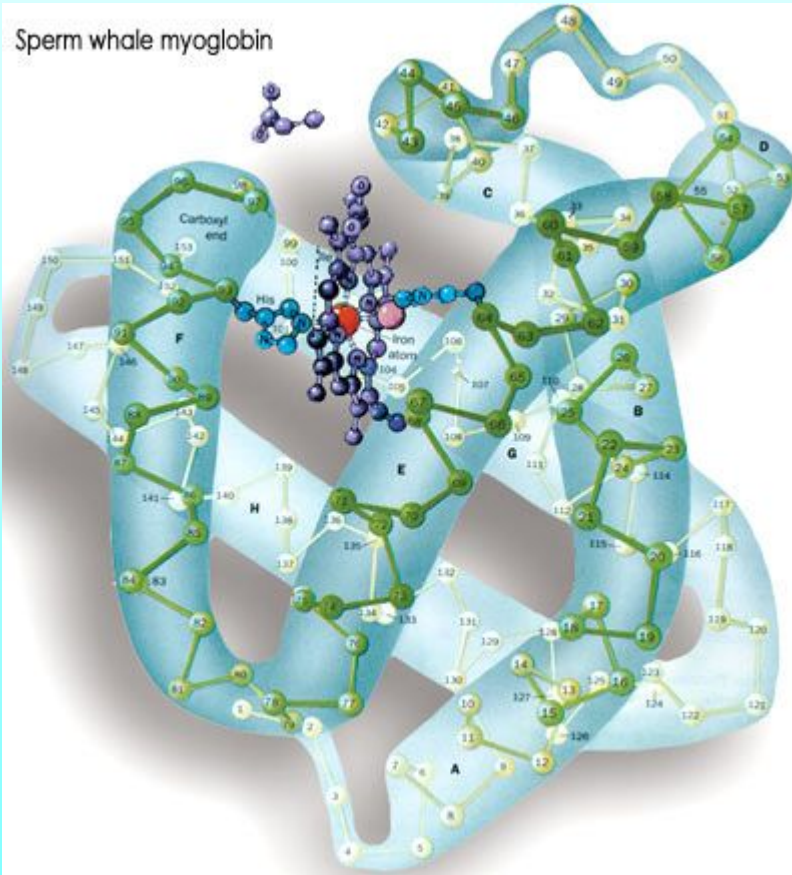


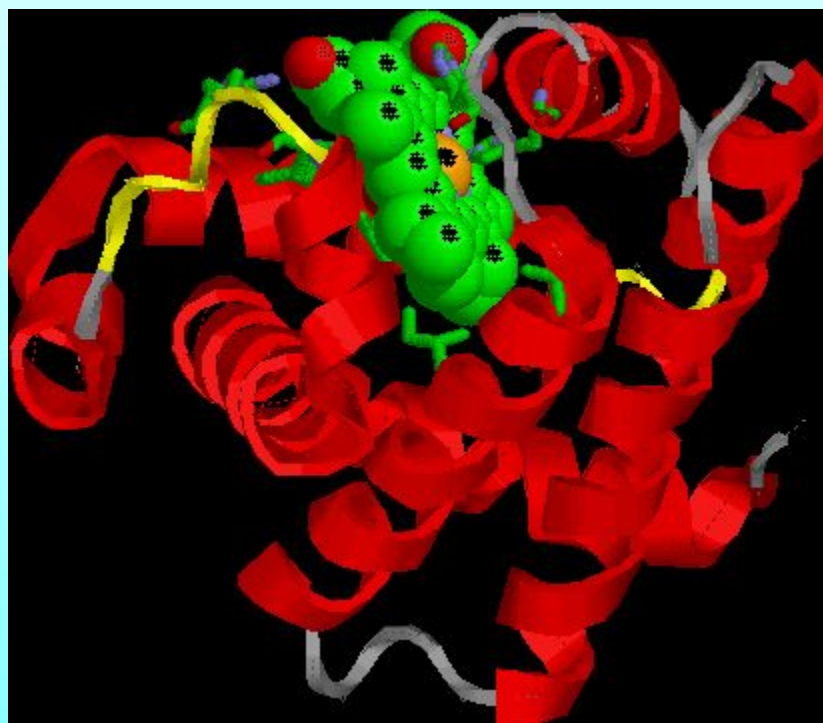
Myoglobin



Hemoglobin

Sperm whale myoglobin





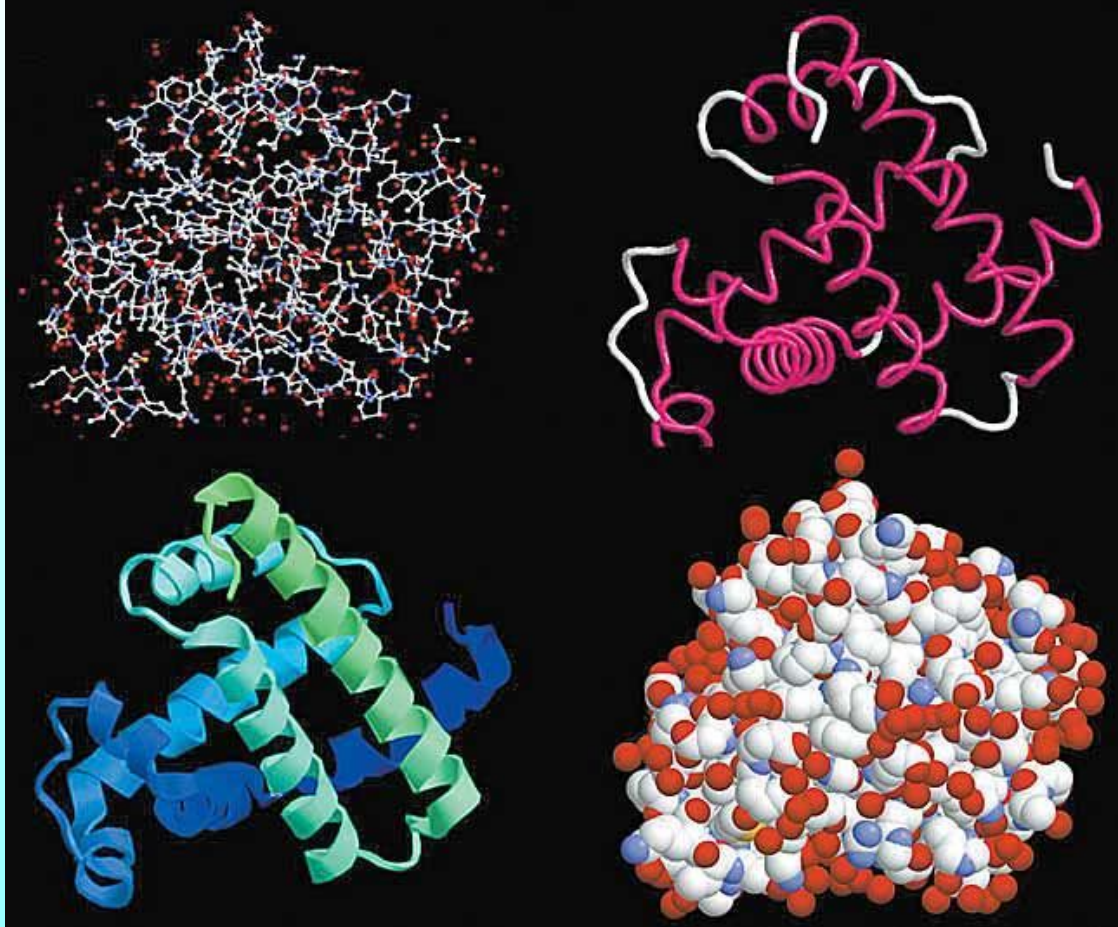


Рис.2. Компьютерные изображения структуры белка миоглобина.

1 - атомы в виде небольших сфер разного цвета: красные - кислород, белые - углерод, синие - азот, желтые - сера.

Атомы водорода очень слабо рассеивают рентгеновские лучи и на изображении их нет. Красные сферы по краям белковой молекулы - это кислородные атомы структурированной воды, прочно связанной с белковой глобулой.

2 - общий ход полипептидной цепи. Участки  $\alpha$ -спирали выделены красным цветом, неструктурированные петли цепи - белым цветом.

3 - спиральные структуры в виде лент.

4 - атомы даны как сферы с радиусами Ван-дер-Ваальса.

Рассматривая рисунки 1-3, можно подумать, что полипептидная цепь уложена рыхло и потому обладает большой подвижностью. Но это не так: белковая глобула выглядит как плотная гроздь атомов, лишенных возможности свободного перемещения (4).