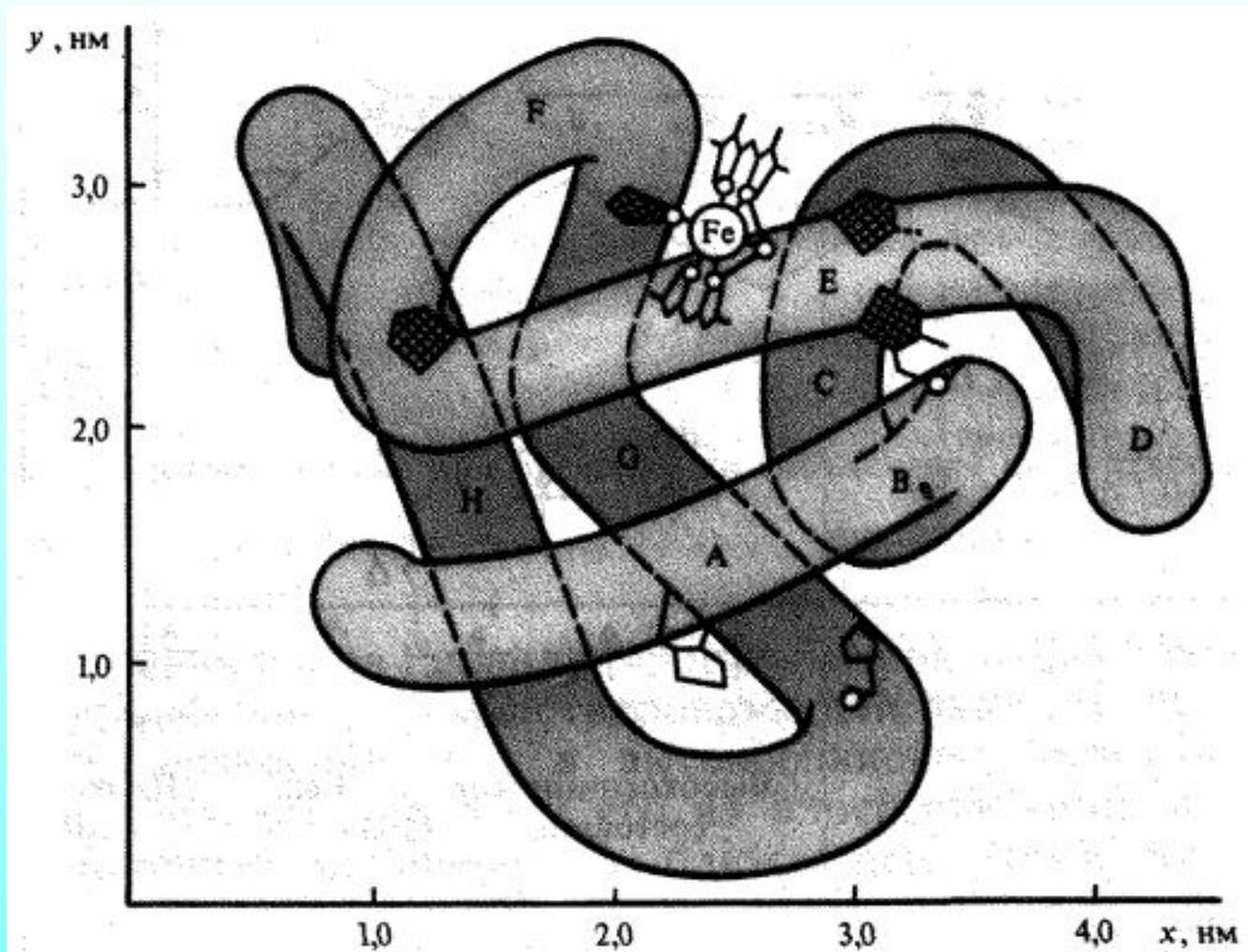
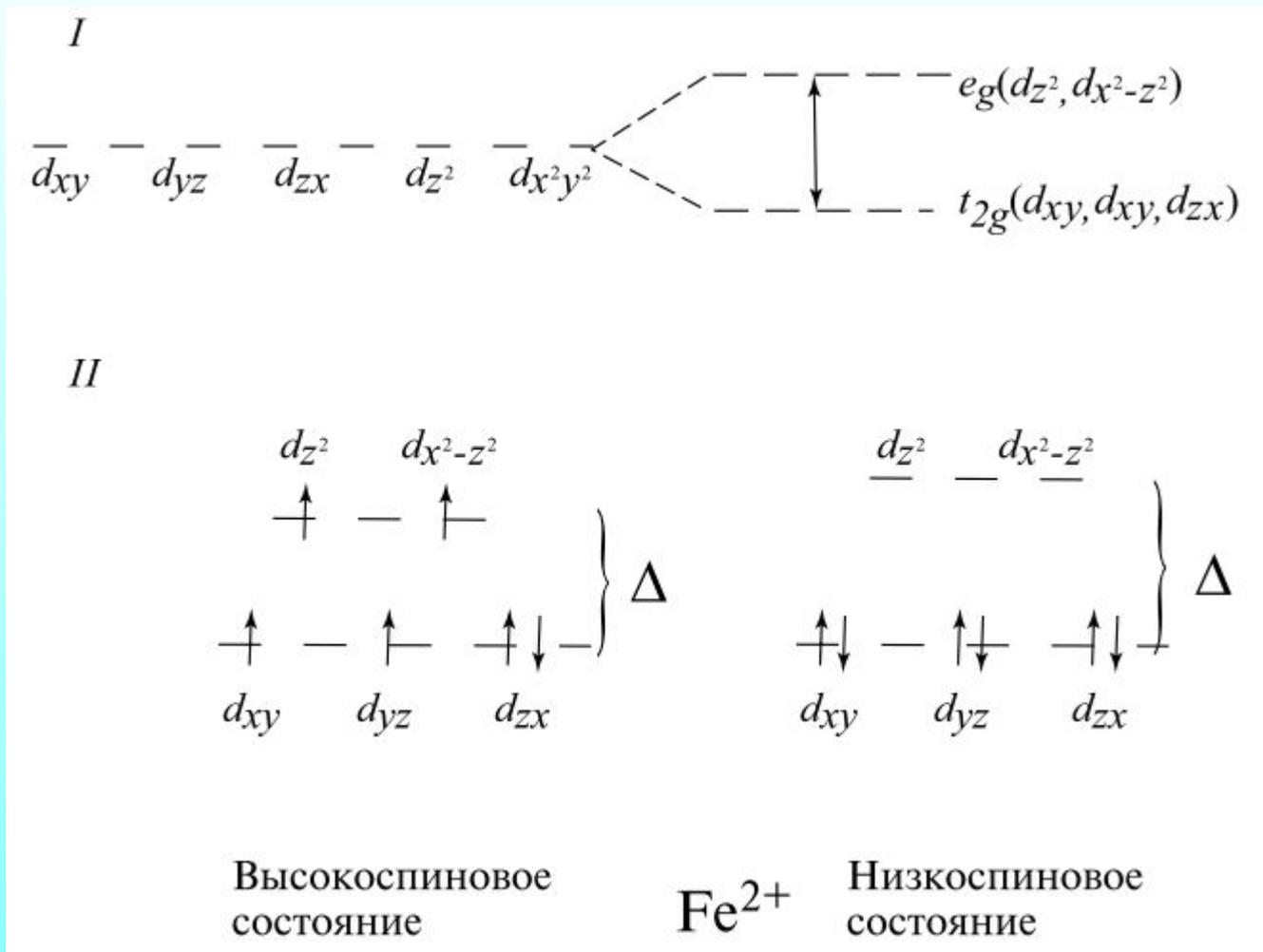


Молекулярная биофизика

Динамика макромолекул

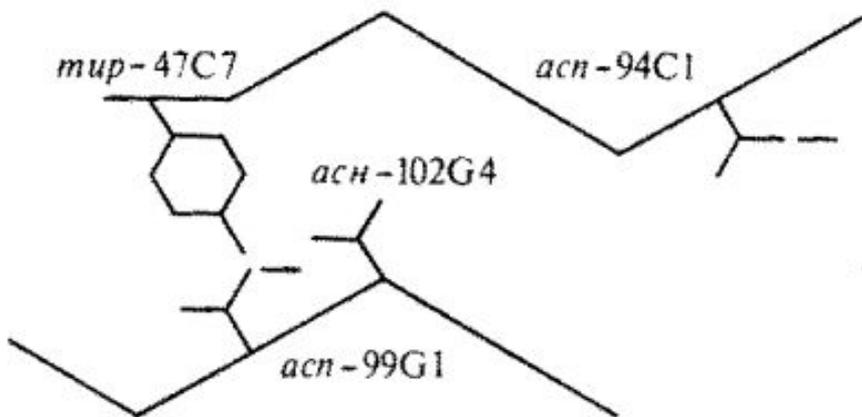


Пространственная структура миоглобина (кашалота) в проекции ху
Миоглобин (переносчик кислорода в мышцах) содержит один гем и
одну полипептидную цепь, включающую 153 остатка, которые
распределены в основном по 8 α -спиральным участкам (А — Н). Гем, в
центре которого расположен атом Fe, находится между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



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

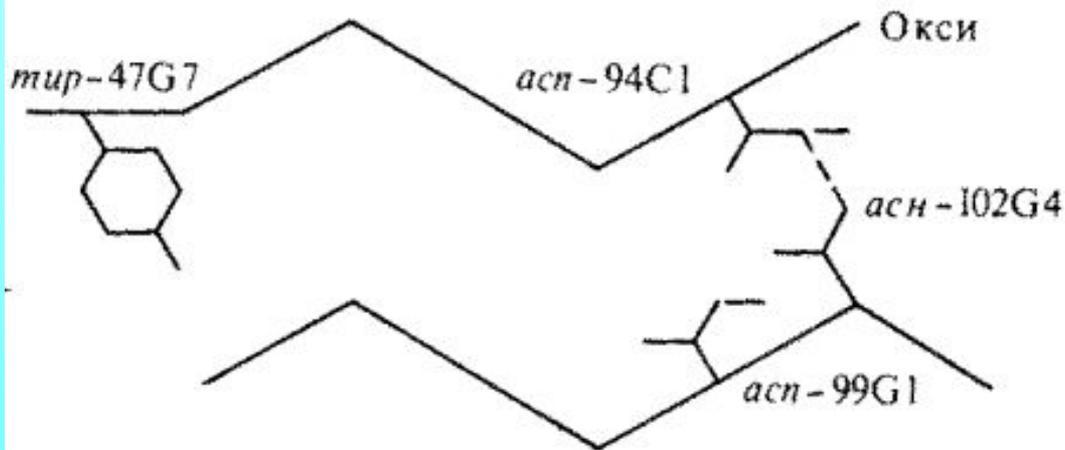
α – Субъединица



β – Субъединица

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

α – Субъединица



β – Субъединица

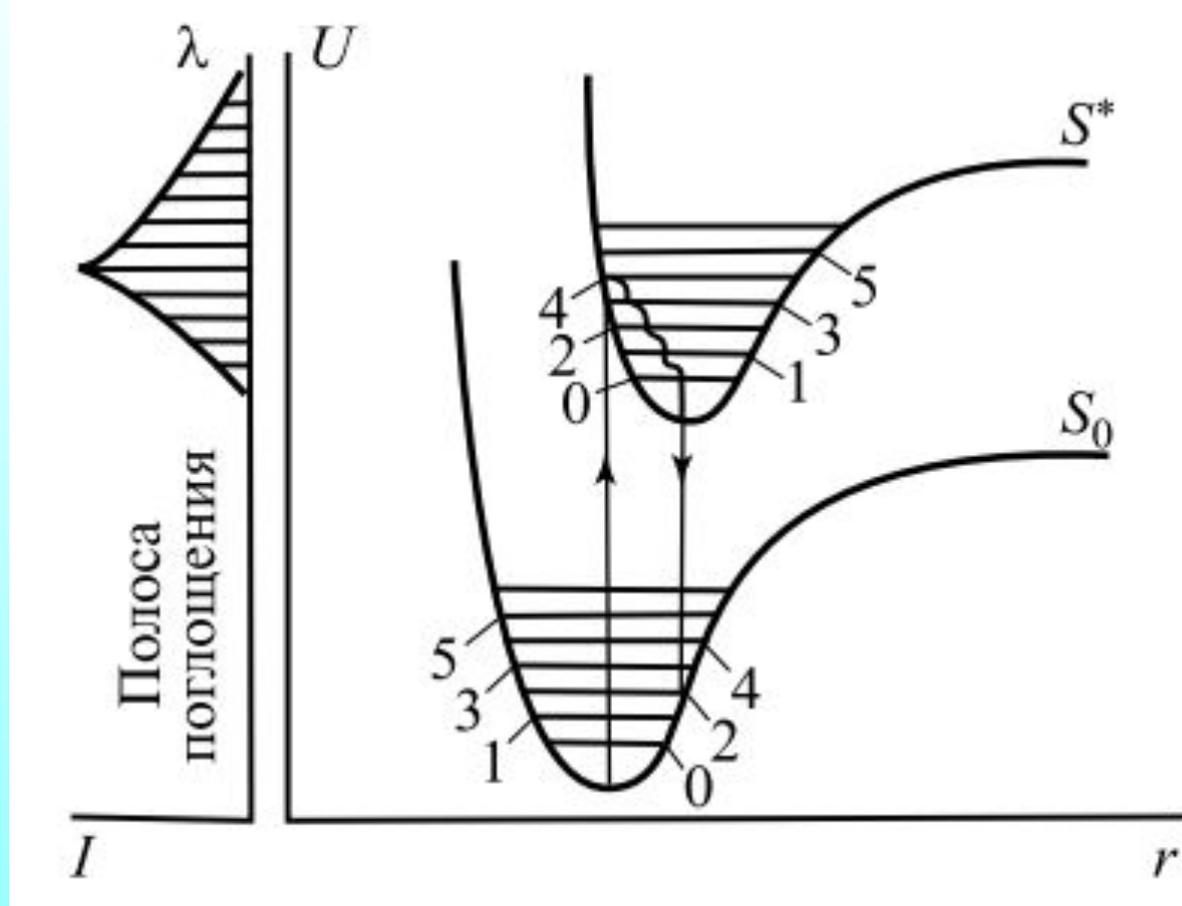
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

Белки и нуклеиновые кислоты.

Методы изучения

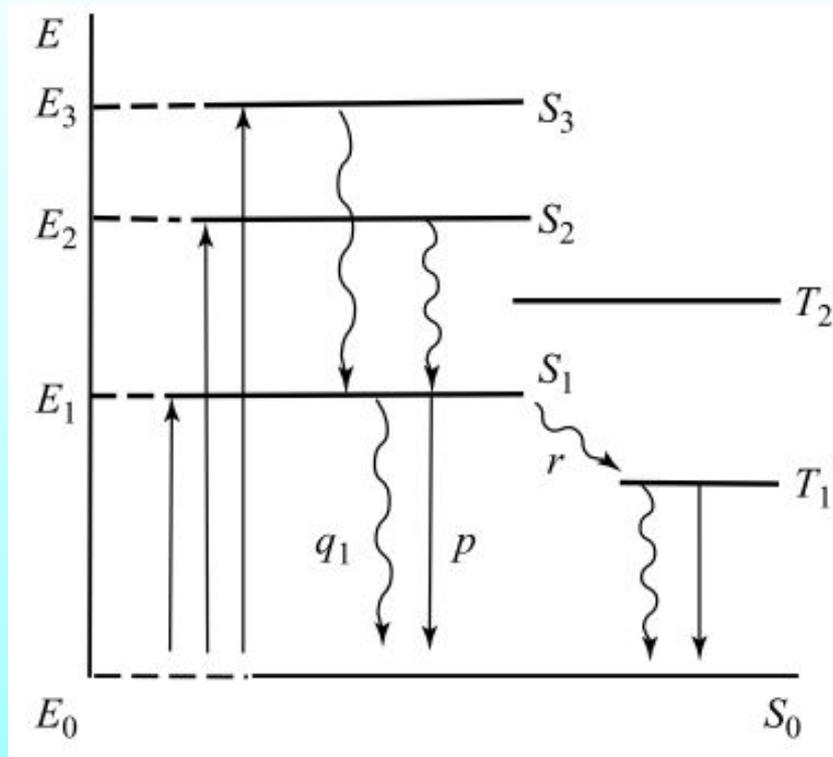
Методы изучения подвижности белков

- 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; λ — длина волны; 0-5 — колебательные подуровни ядерных состояний



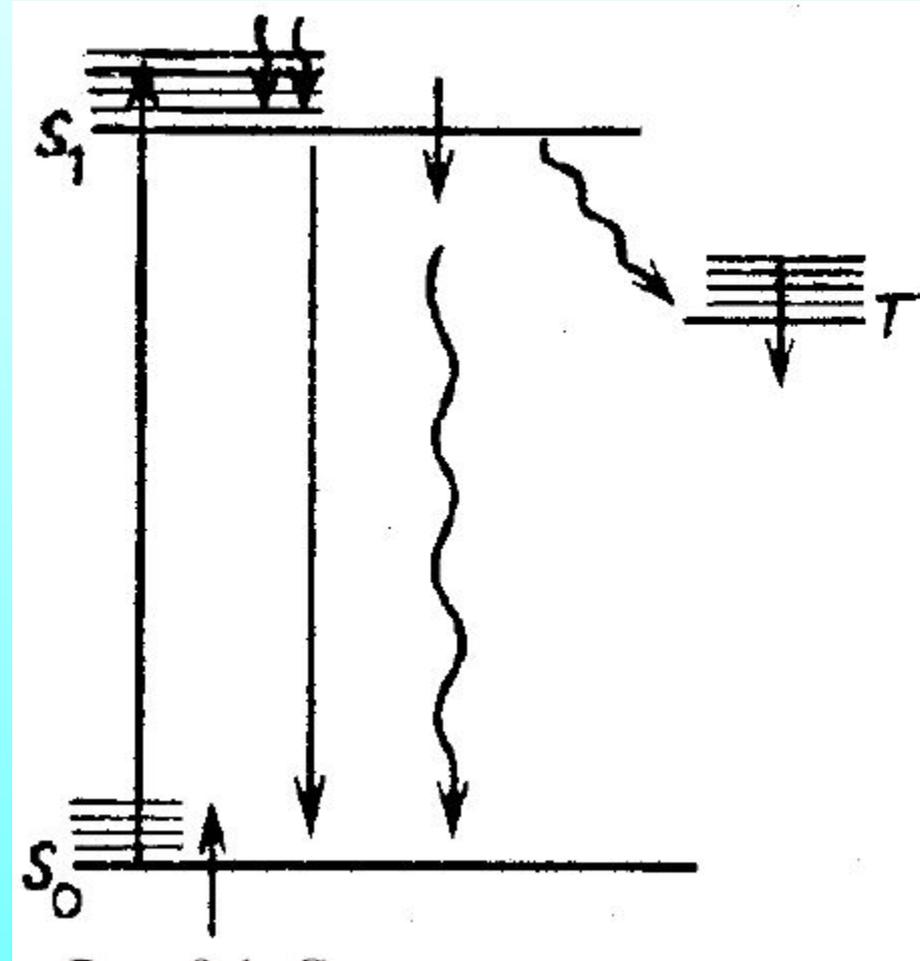
Электронные уровни органической молекулы и переходы между ними (схема Яблонского): p — вероятность переходов в единицу времени на основной уровень с испусканием флуорисценции, q_1 — то же, без излучения; r — вероятность конверсии и триплетное состояние.

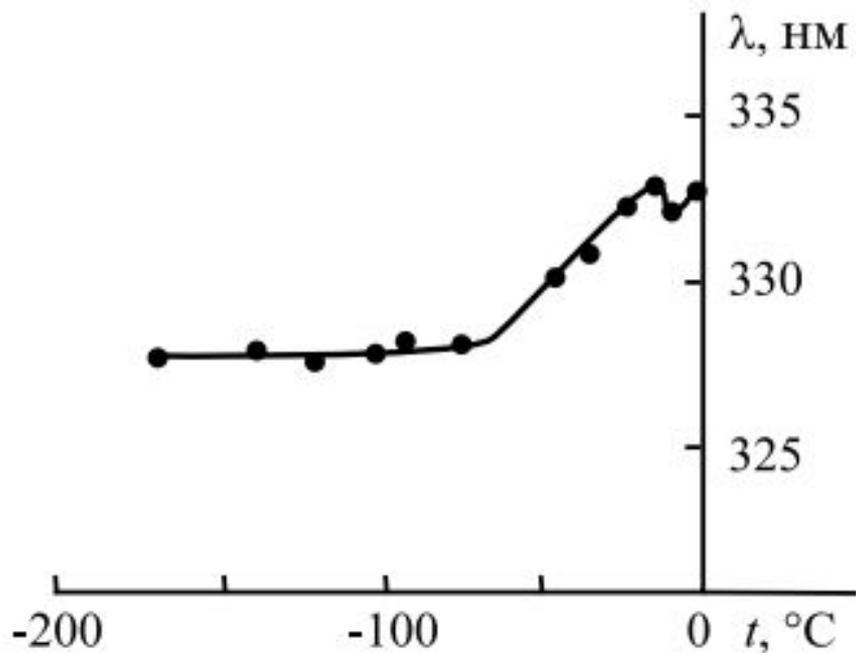
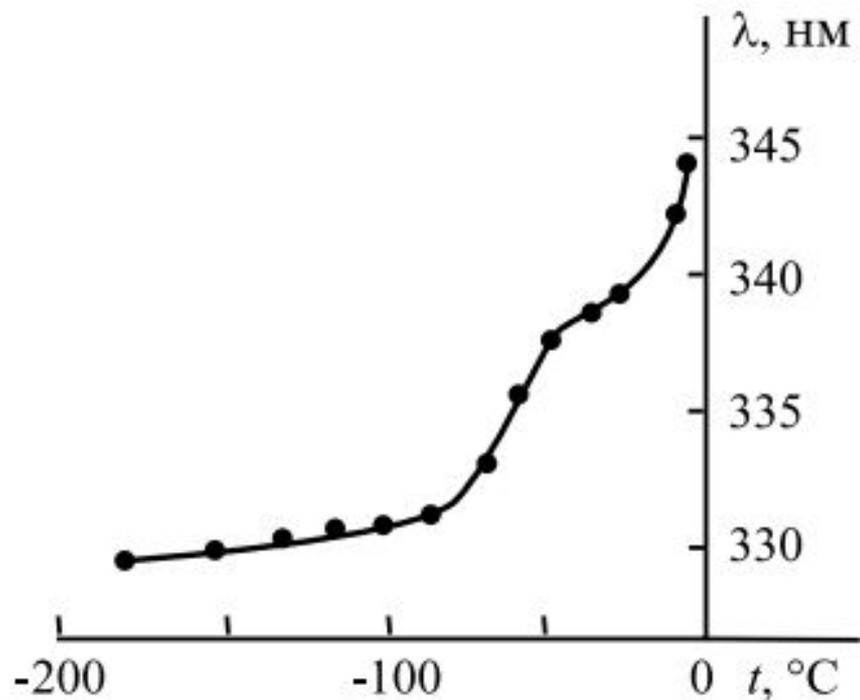
Молекула обладает системой триплетных T_1, T_2, \dots и синглетных возбужденных уровней S_1, S_2, \dots, S_n . При переходе на один из высших возбужденных синглетных уровней избыток энергии быстро (10^{-12} с) диссипирует; молекула попадает на низший возбужденный синглетный уровень S_1 , с которого и 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

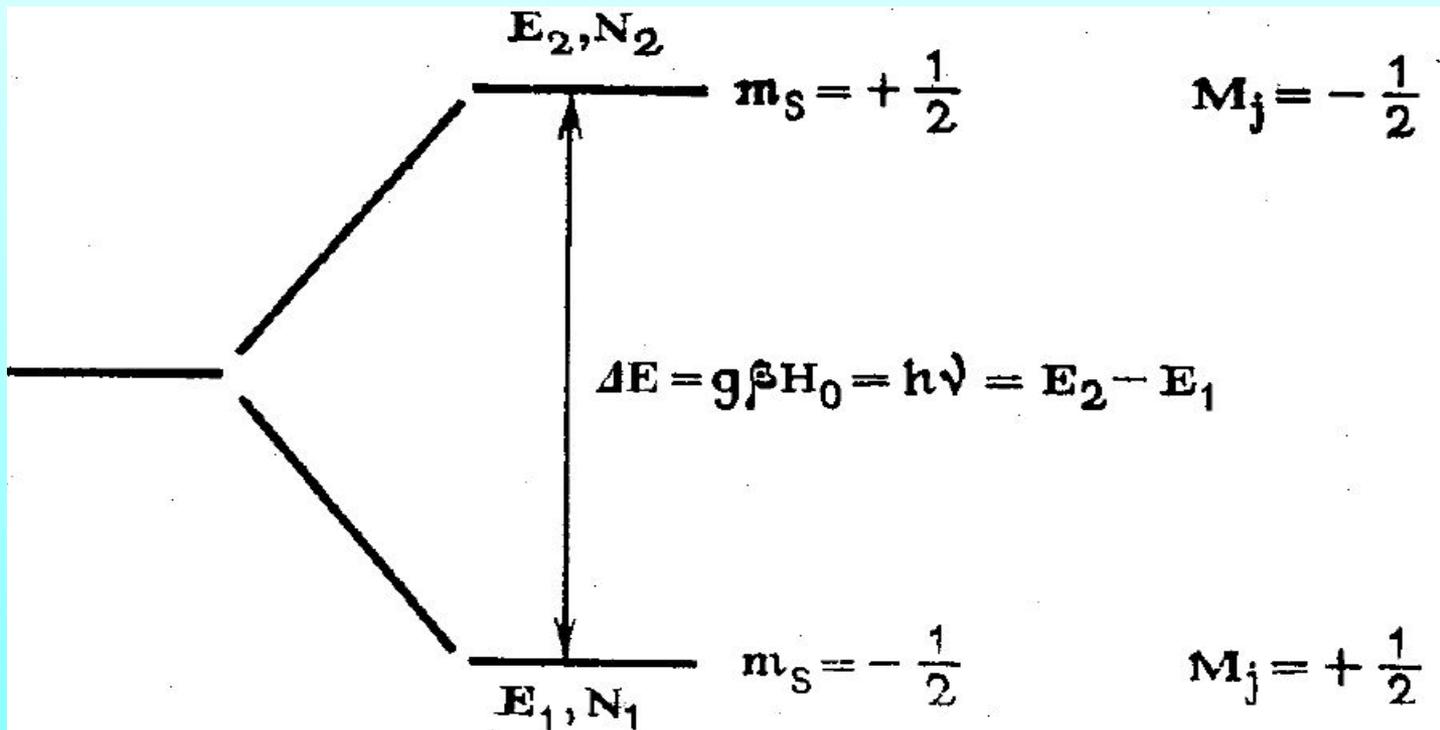
- Измерение внутримолекулярной подвижности белка по зависимости положения максимума люминесценции метки, введенной в белок, либо собственной люминесценции триптофана белка от температуры
- Характеристика подвижности окружения метки
- $t = 10^{-2} - 10^{-6}$ с
- $\tau = 10^{-1} - 10^{-2}$ с
- $\tau^*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



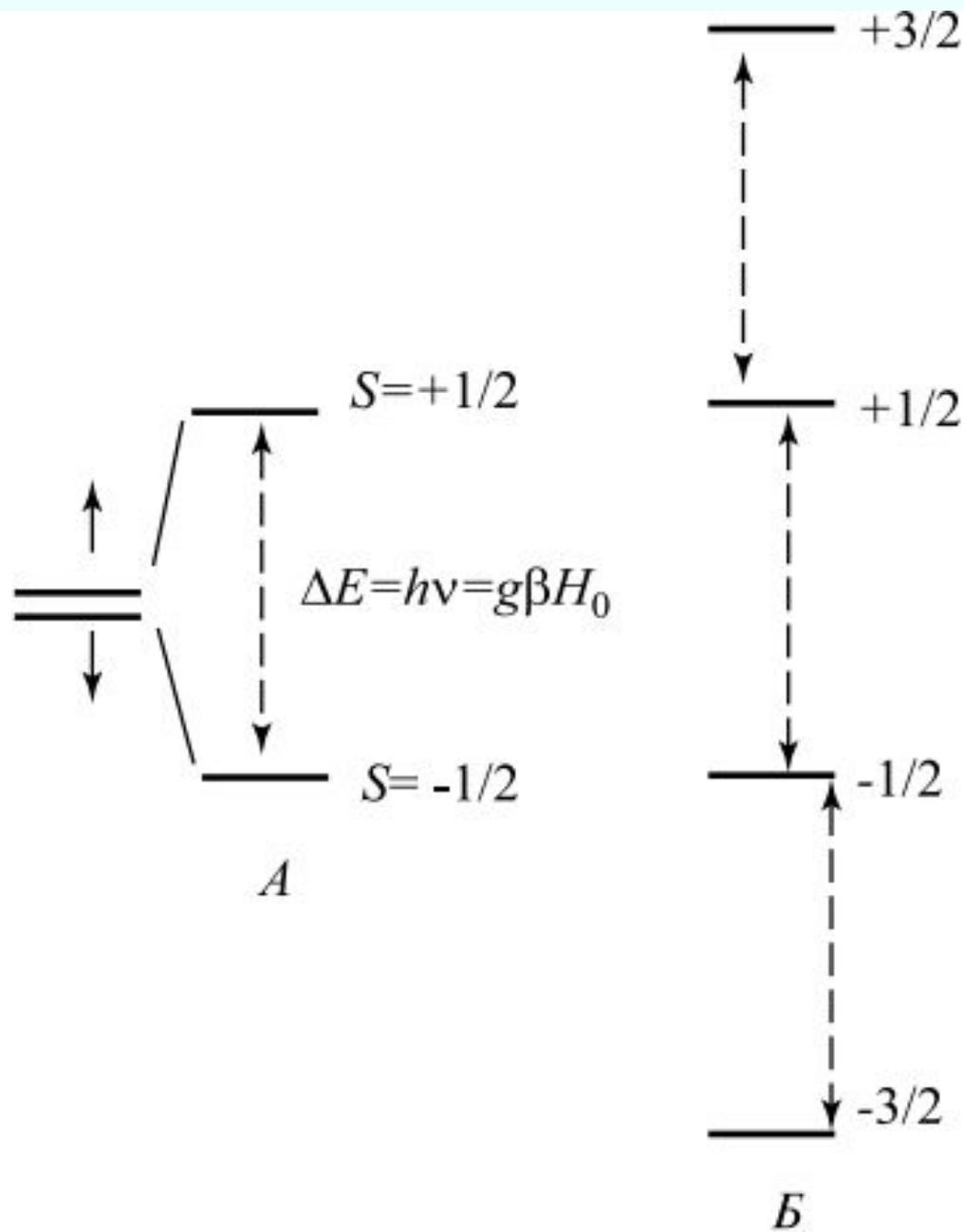
I*II*

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

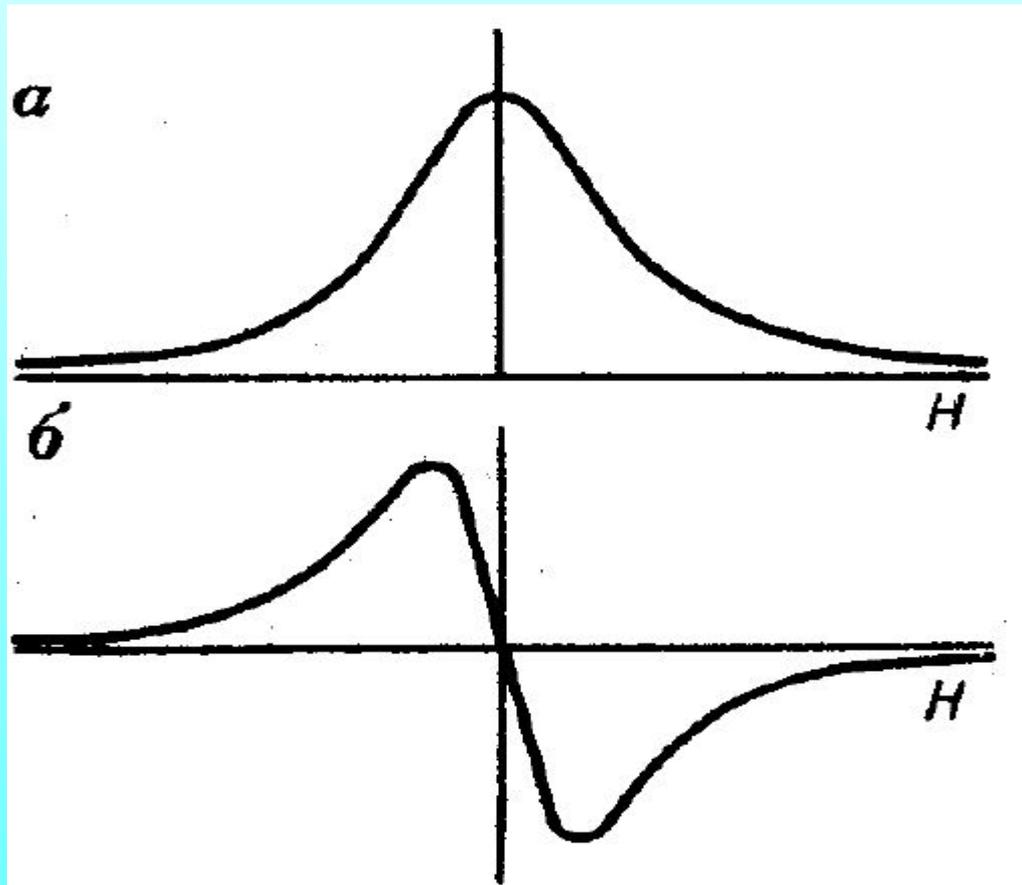


Расщепление энергетических уровней
электрона (протона) в магнитном поле (H)



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

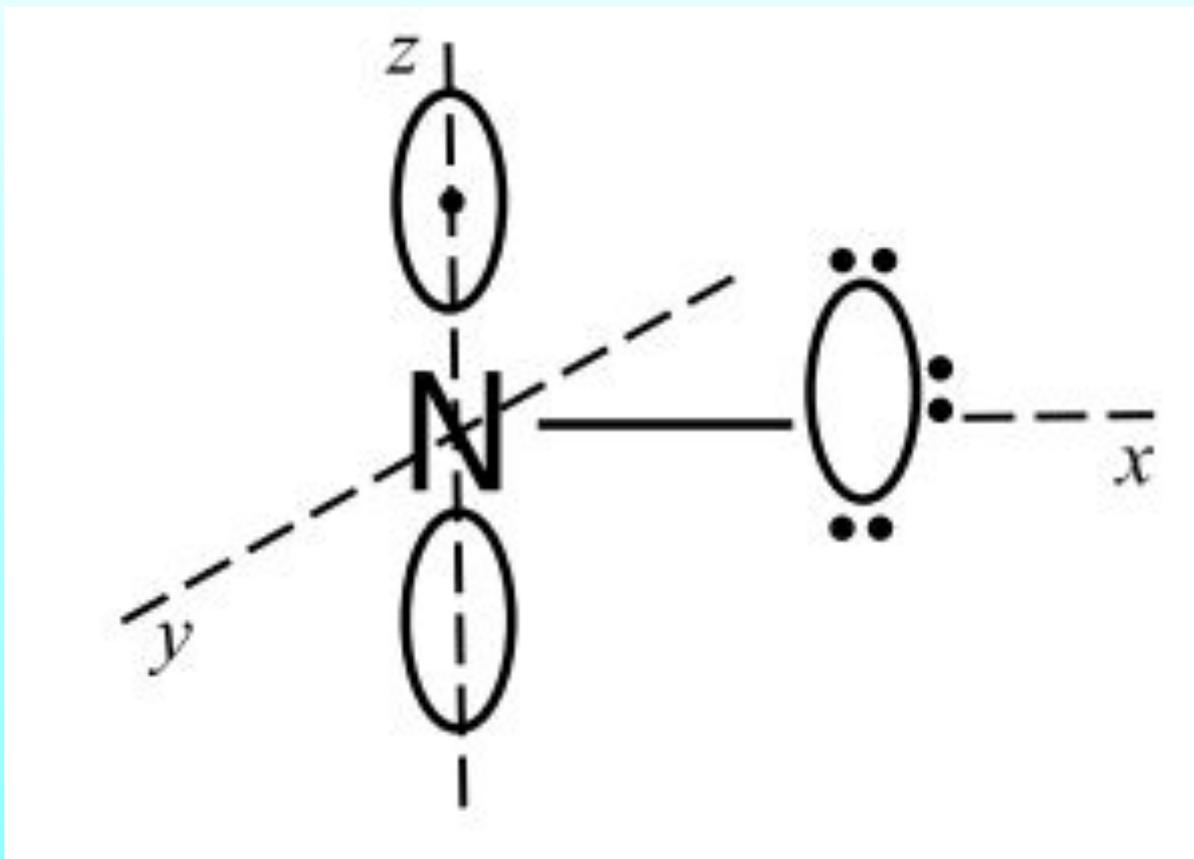
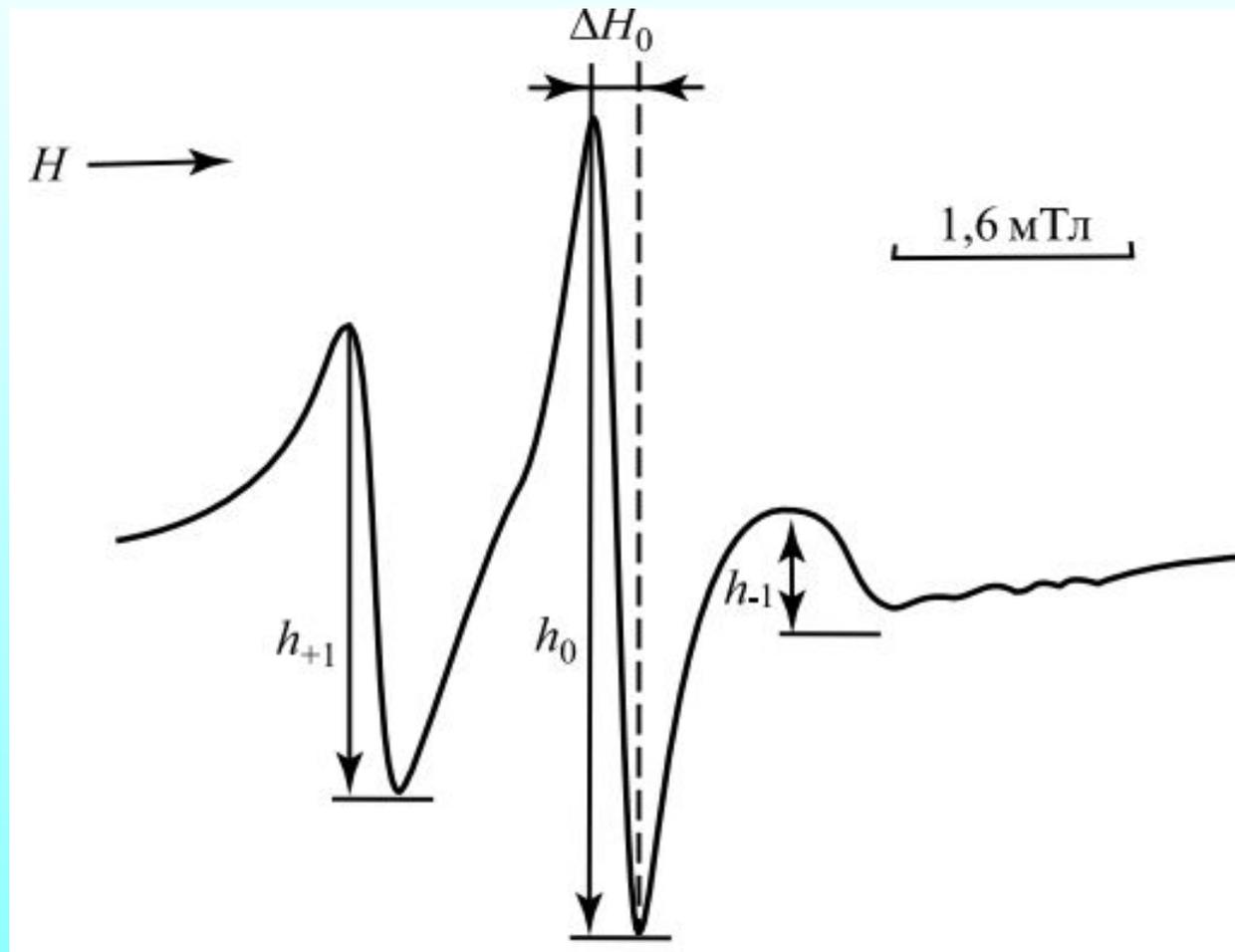


Схема парамагнитного фрагмента
нитроксильного радикала



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 $M = -1; 0; +1$; ΔH_0 — ширина центрального компонента

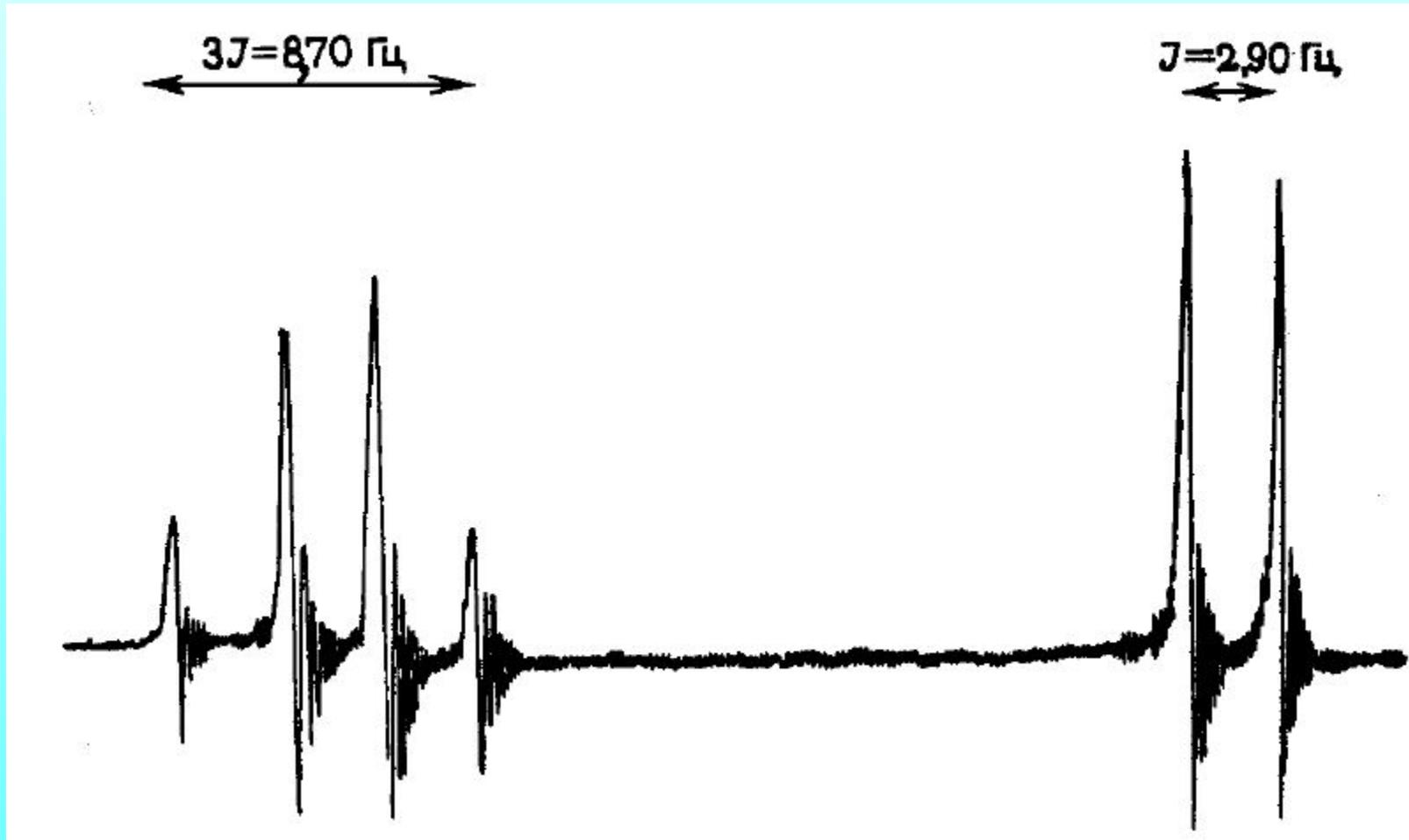
ЯМР-спектроскопия

- 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 γ -квантов тяжелым ядром атома

Эффект Мёссбауэра

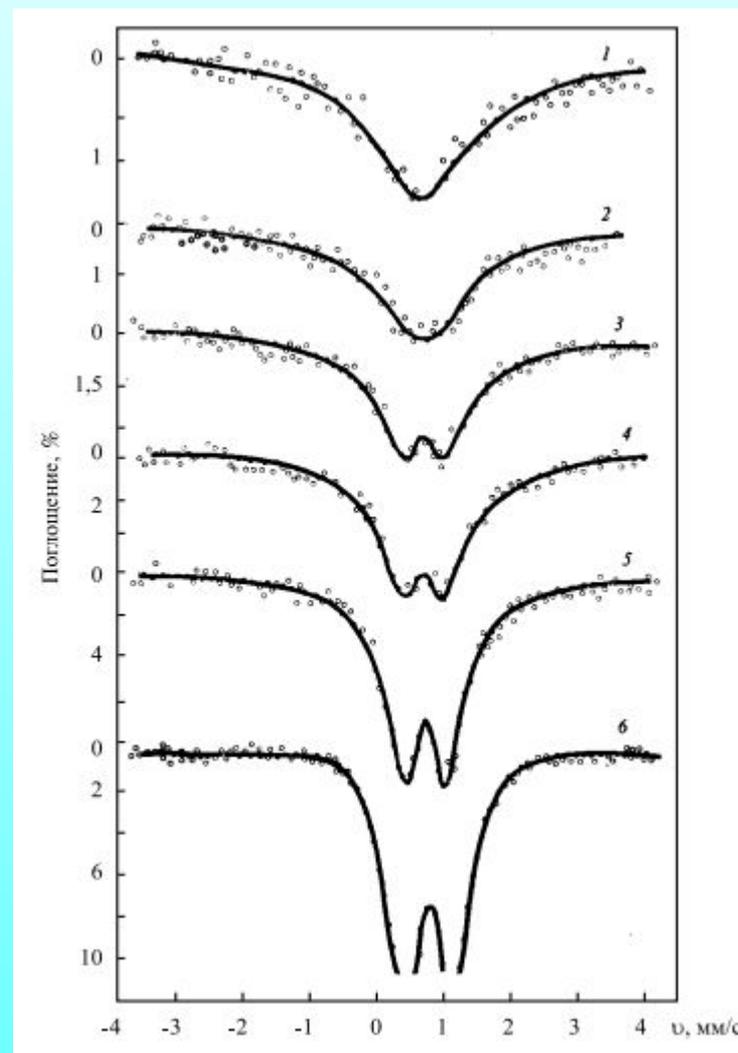
Эффект Мёссбауэра

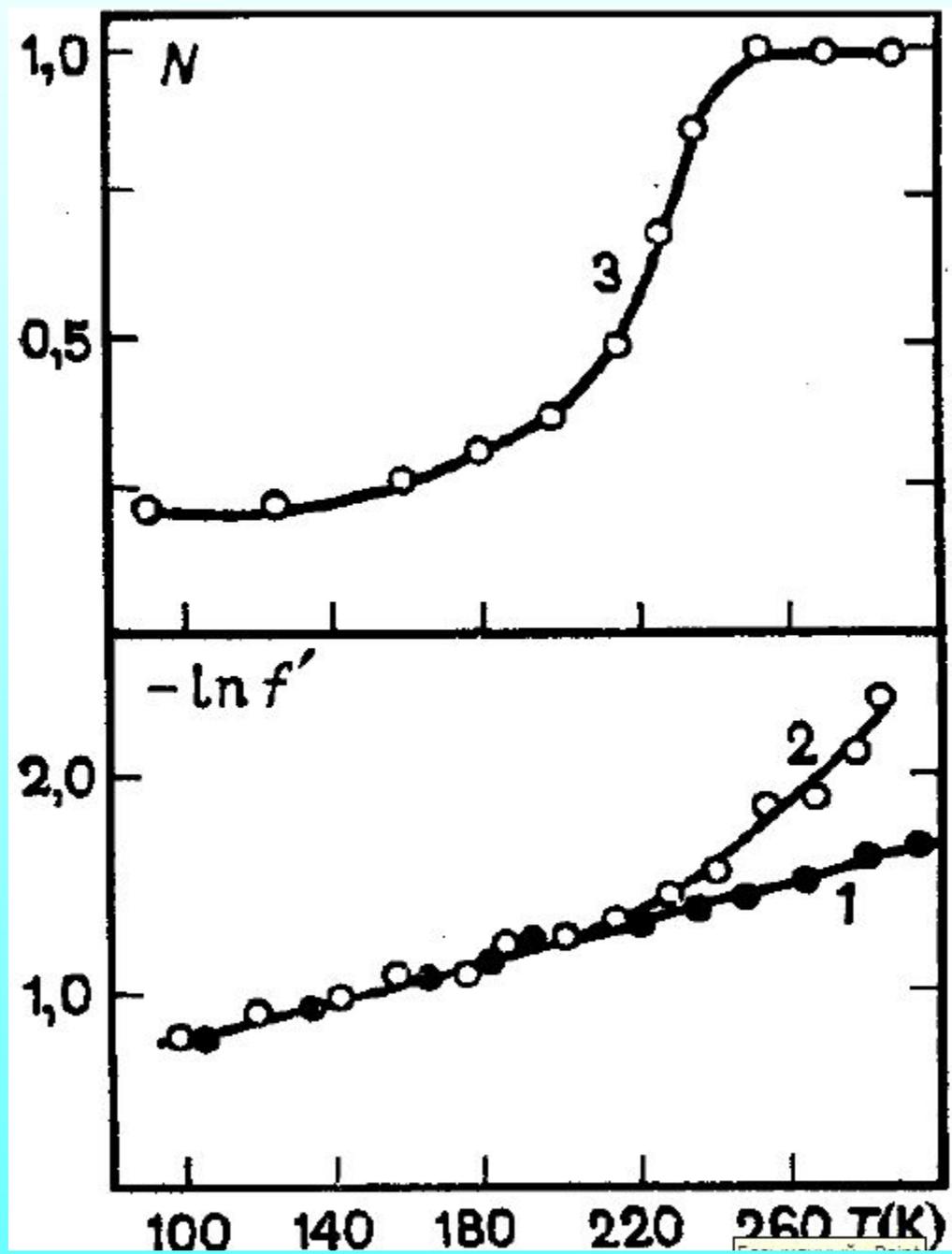
$$f' = e^{-x^2/\lambda}$$

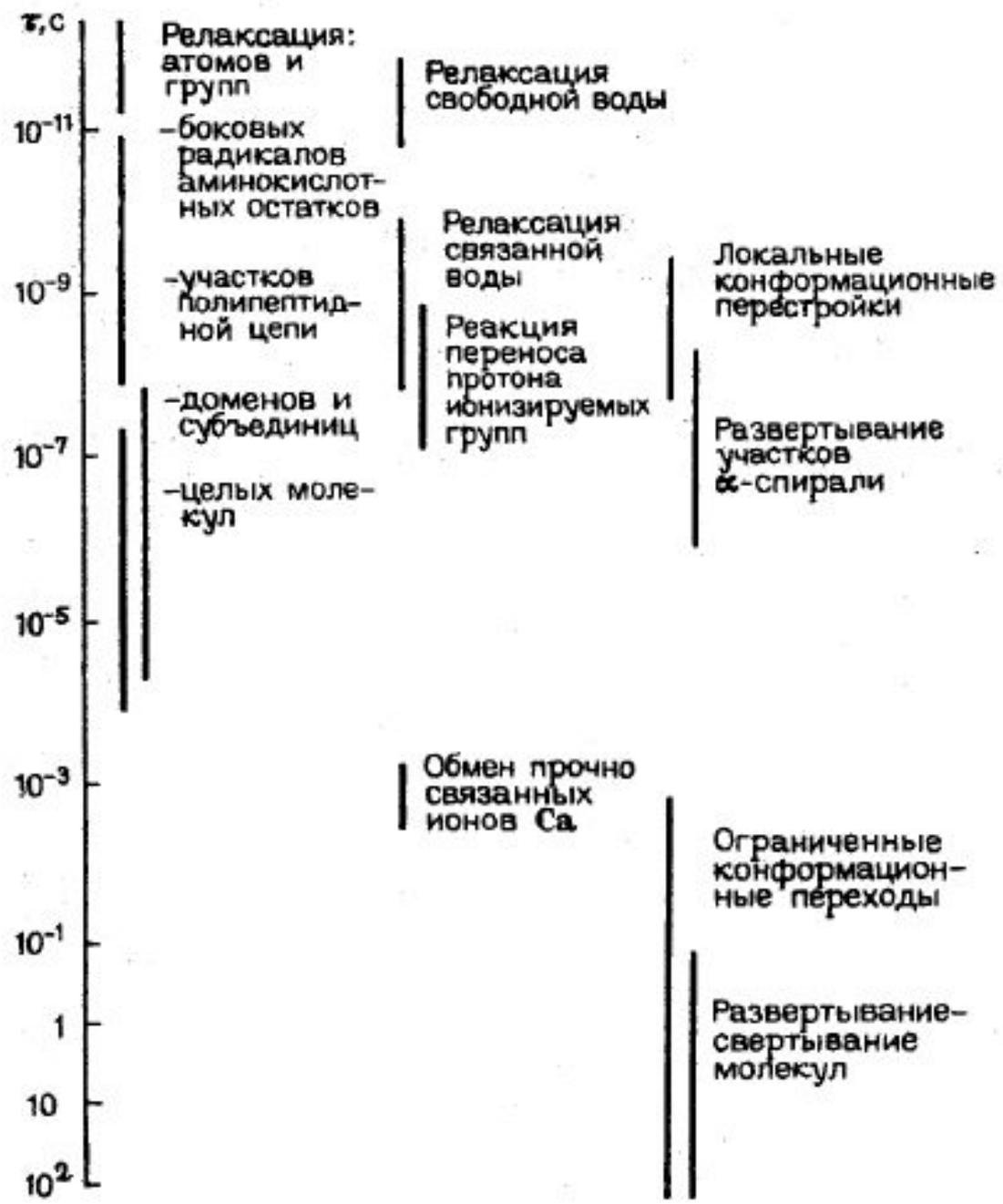
$$\tilde{\lambda} = \lambda/2\pi$$

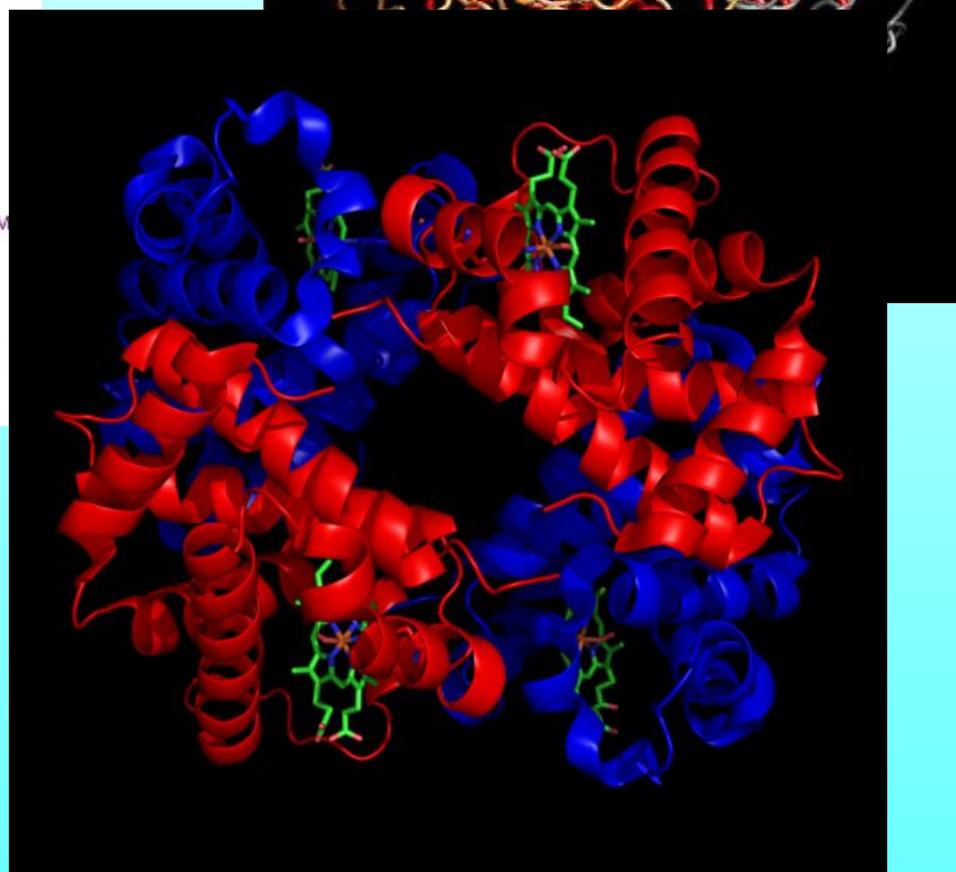
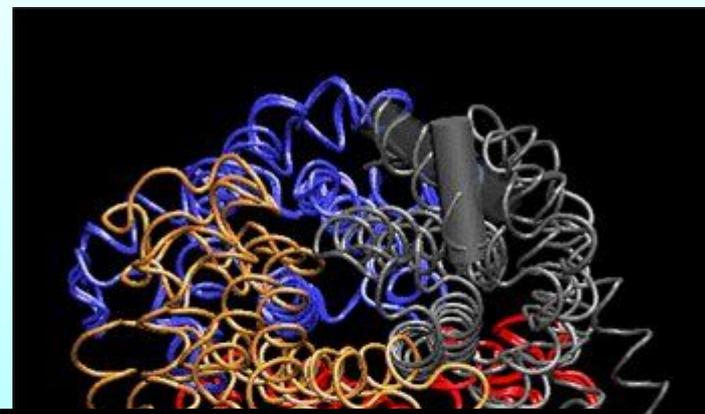
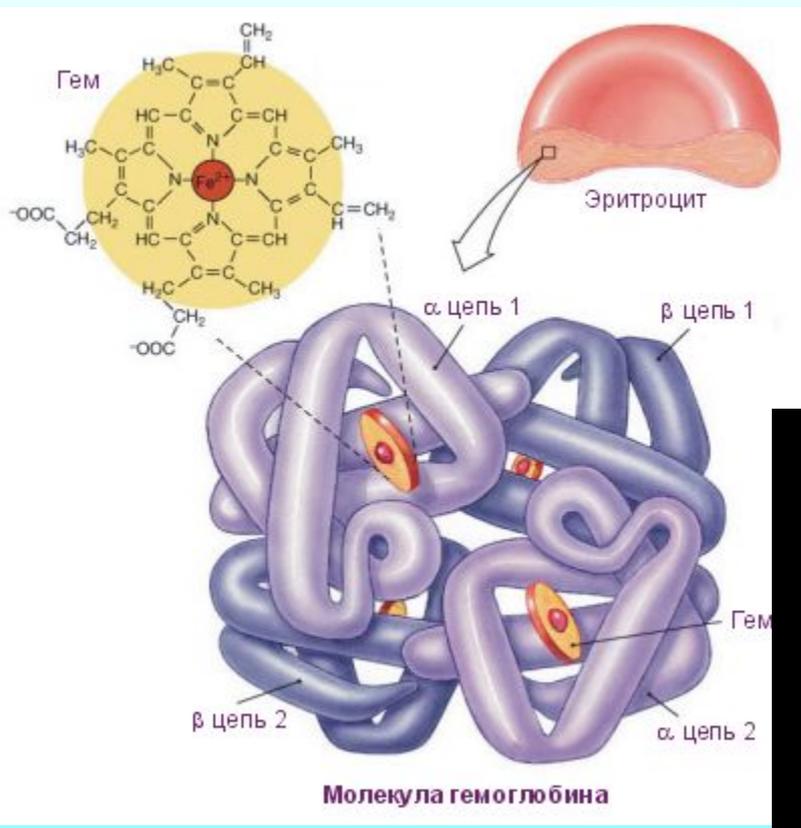
$$\tilde{\lambda} = 0,13 \text{ \AA} \text{ для } ^{57}\text{Fe}$$

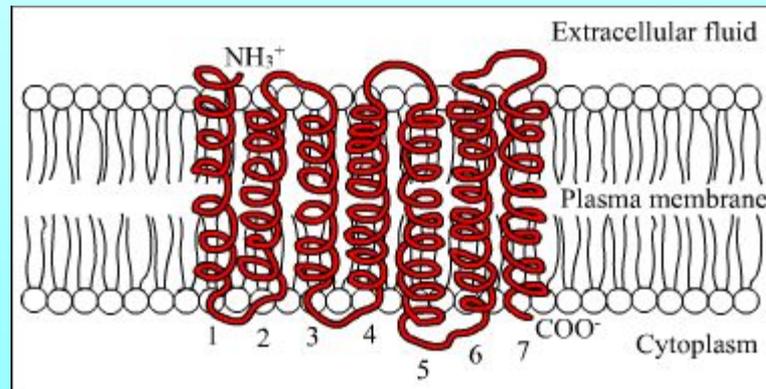
Уширение спектра обусловлено диффузией молекул белка.
Изменение частоты уширения пропорционально скорости источника (v)



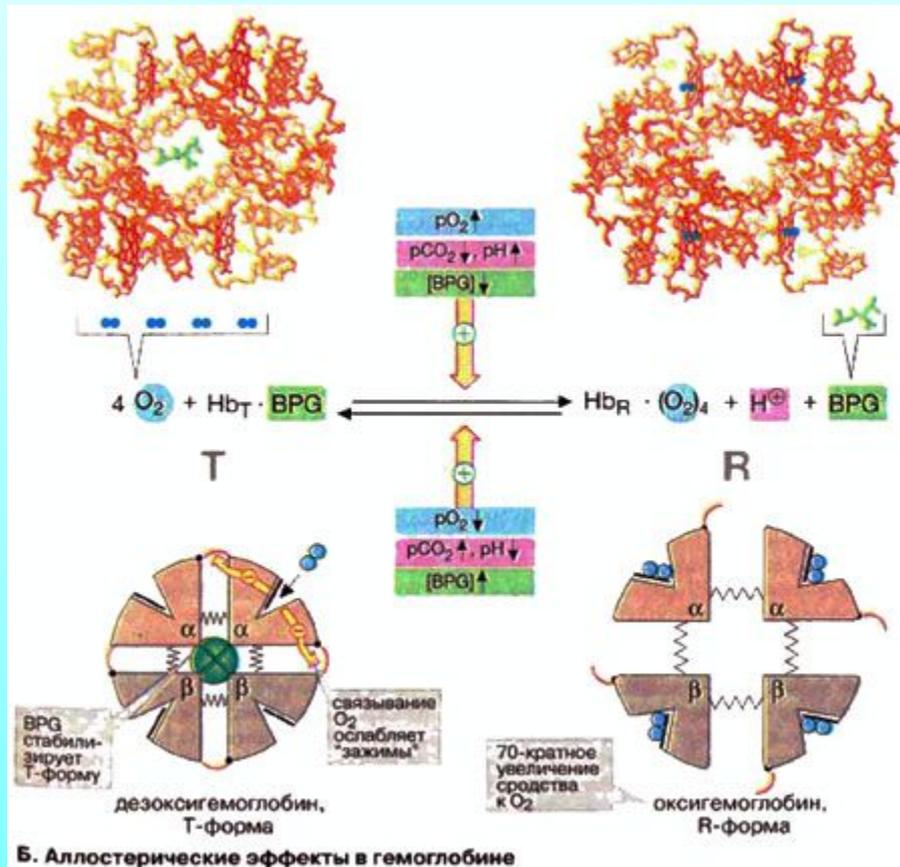




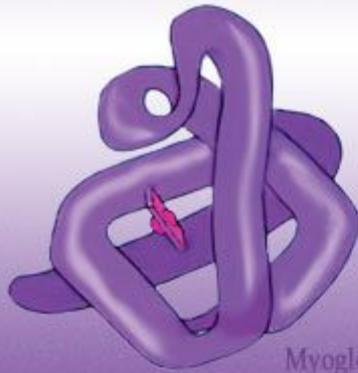




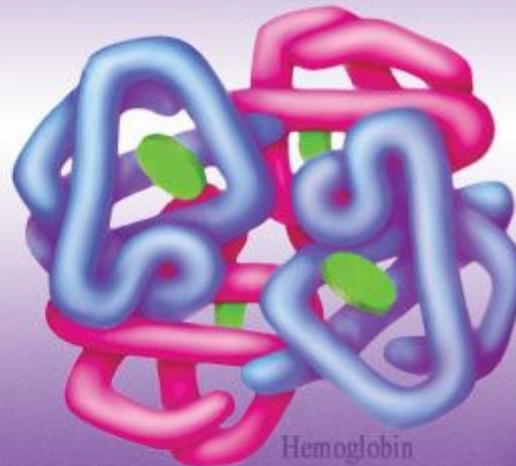
**Picture of G-Protein Receptor Family 7 TM
Transmembrane Domains**



TWO MARVELS OF CREATION: MYOGLOBIN AND HEMOGLOBIN

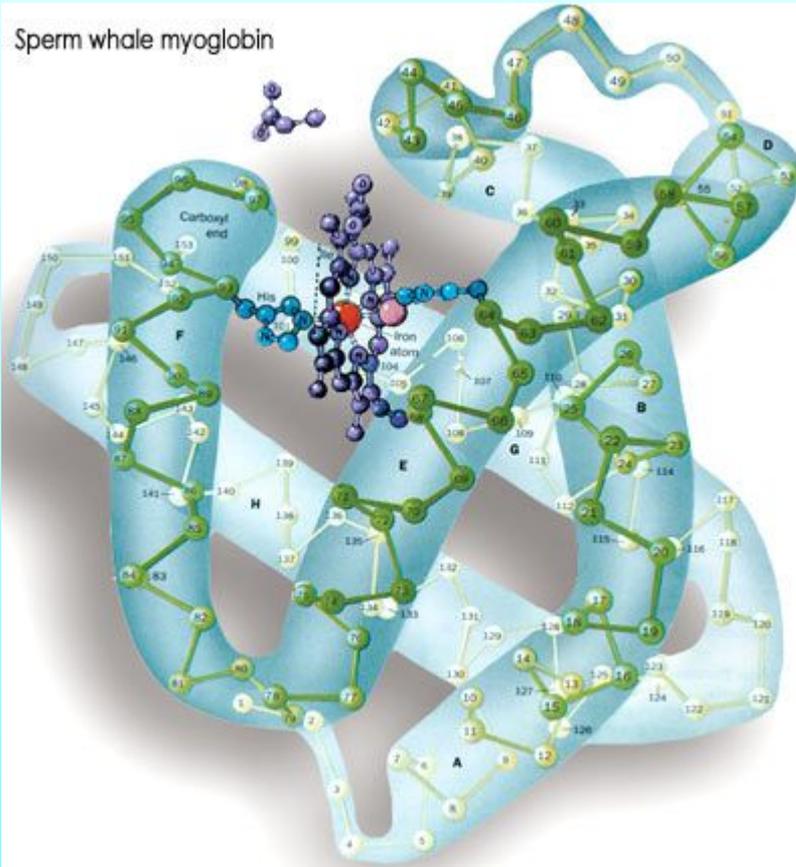


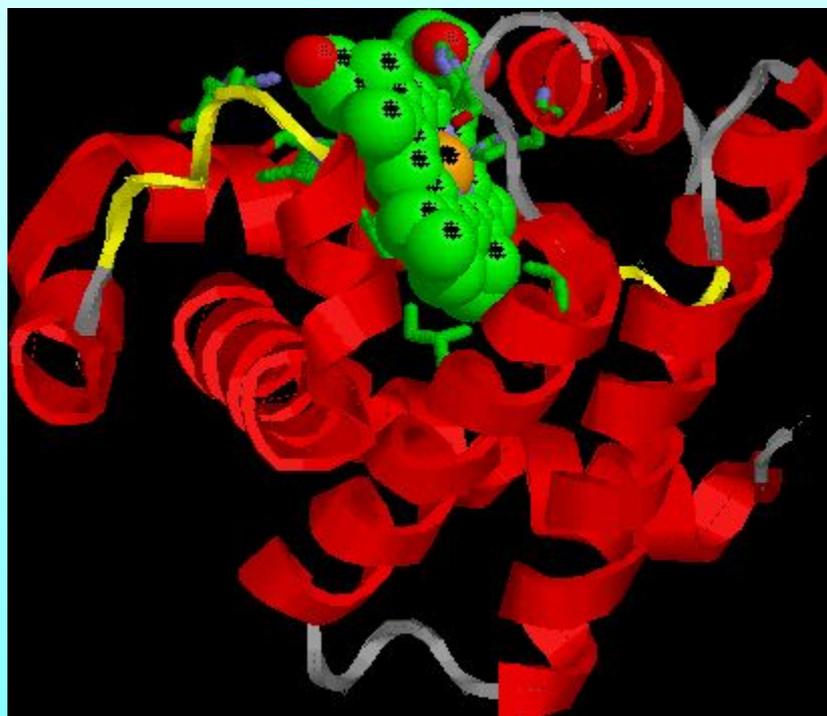
Myoglobin



Hemoglobin

Sperm whale myoglobin





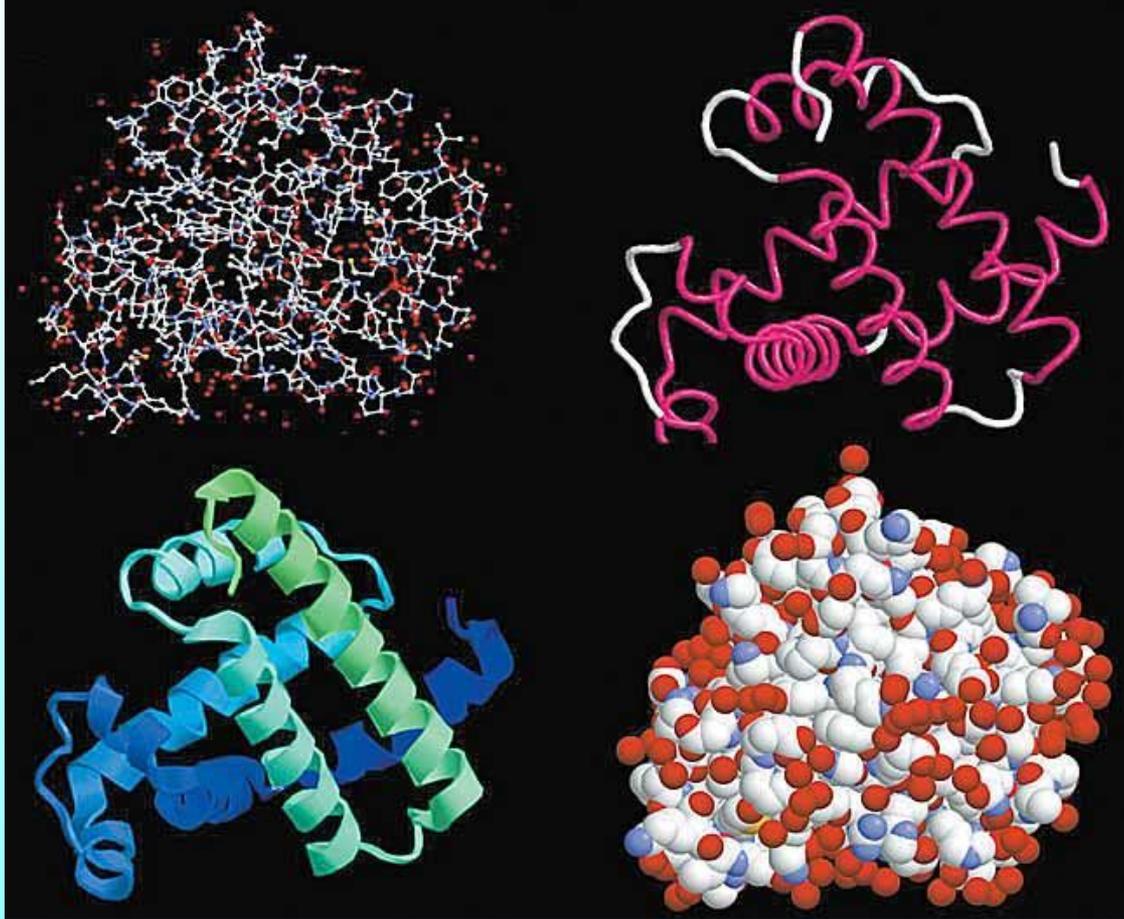


Рис.2. Компьютерные изображения структуры белка миоглобина.

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 α -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).