

РОЛЬ КОНФОРМАЦИОННОЙ ДИНАМИКИ БЕЛКА В РЕГУЛЯЦИИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

Е.В. Борщева¹, В.А. Аветисов^{1,2}

¹Департамент прикладной математики Национального исследовательского университета “Высшая школа экономики”

²Институт химической физики им. Н. Н. Семенова Российской академии наук

katbr@yandex.ru, vladik.avetisov@gmail.com

Поступила 29.05.2017

В данной работе мы приводим результаты разносторонних исследований ультраметрической математической модели рабочего цикла белка-фермента, расширяющие распространенные представления о регуляции ферментативной активности, а также даем их физическую интерпретацию. Модель заключается в представлении многомерного сильно пересеченного энергетического ландшафта белка иерархией вложенных друг в друга бассейнов локальных минимумов и в аппроксимации динамики белка ультраметрическим случайным блужданием. Ультраметрическое случайное блуждание, в отличие от случайного блуждания в низкоразмерном евклидовом пространстве, релевантно многомасштабной конформационной динамике белка и согласуется с наблюдаемыми особенностями кинетики ферментативной реакции. Мы показываем, что противоречивые, на первый взгляд, регуляторные свойства ферментов следствие универсальной сложности конформационной динамики белка, обусловленной его энергетическим ландшафтом. Ультраметрическая модель позволяет увидеть различные пути регуляции ферментативной активности.

УДК 519.2+577.3

1. Введение

Ферменты, как известно, это белковые структуры, выполняющие в клетке различные операции на молекулярном уровне — специфическое связывание, образование и разрыв химической связи, перенос заряда и т.д. Понимание того, что функциональная способность белков-ферментов обусловлена не только специфической пространственной укладкой белковой макромолекулы, но и особой динамической подвиж-

ностью белковой структуры, сложилось достаточно давно (см, например, ставшее классическим изложение этого вопроса в [15]). Среди прочих полимерных структур белки выделяются очень широким диапазоном временных и пространственных масштабов движений, характерных и для неупорядоченной жидкости, и для жидкокристаллической фазы, и для твердого тела. Внутрискруктурные движения в белке могут быть пикосекундными, если речь идет о смещениях небольших химических групп в пределах их стерических ограничений, но могут затрагивать и более крупные фрагменты, смещение которых возможно только при согласованных подвижках их соседних участков. Такие нелокальные, коллективные движения, которые обычно и имеют в виду, говоря о конформационной динамике белка, могут распространяться от $\sim 10^{-9}$ сек до $\sim 10^0$ сек и более. Именно они и представляют основной интерес при изучении связи между динамикой белка и его функцией.

В каждом конкретном виде фермента механизм, связывающий динамику белка и его функцию, может реализоваться по-своему (см, например, [17]). Вместе с тем, в этом вопросе имеется вполне общая теоретическая задача, состояние которой остается пока дискуссионным. Она заключается в описании динамики белка на всей шкале временных масштабов, относящихся к функции белка. Нетривиальность этой задачи видна уже из ее постановки. Действительно, возьмем N -частичную классическую систему, каждая частица которой имеет m степеней свободы. Множество состояний системы формально можно описать (евклидовым) пространством S размерности $d = Nm$, ассоциируя состояние системы с d -мерным вектором \vec{R} , описывающим положение изображающей точки в S . Формально, задав поверхность $\Phi(\vec{R})$ потенциальной энергии системы (энергетический ландшафт системы) над пространством S и выбрав подходящие (для рассматриваемого вопроса) уравнения движения на многообразии $\Phi(\vec{R})$, можно перейти к исследованию динамики системы, ставя и решая соответствующие задачи Коши.

В случае, когда энергетический ландшафт $\Phi(\vec{R})$ представляет собой достаточно низкоразмерное многообразие с относительно небольшим числом экстремумов, исследование задачи удастся провести аналитически или численно в ее исходной постановке (см., например, [12] и цитируемую там литературу). Белковые структуры, однако, не относятся к такому случаю. Типичное число степеней свободы белковой макромолекулы $\sim 10^3$ и, как уже отмечалось выше, в ее внутрискруктурные движения могут вовлекаться фрагменты разного масштаба — как с малым, так и с большим числом степеней свободы. Выделить в конформационной динамике белка какой-то определенный масштаб движений, который играл бы ведущую роль в функции белка, затруднительно. С другой стороны, многочисленные ограничения на внутрискруктурные движения, обусловленные неразрывностью белковой полимерной цепи и ее плотной пространственной укладкой, порождают астрономически большое число локальных энергетических минимумов, "долин" и "хребтов" различного масштаба. Энергетический ландшафт белка оказывается столь пересеченным, что его полное описание представляется недостижимым даже при рекордных вычислительных ресурсах. Численное исследование динамики макромолекулярных структур, сопоставимых по сложности с белками, способно дать либо детальное представление о поведении системы в ограниченной области пространства состояний, либо (при сильном огрублении) эскизное представление о поведении системы в целом. В этой связи, поиск моделей, которые были бы релевантны многомасштабной конформаци-

онной динамике белка в контексте ее связи с функцией белка, остается нетривиальной задачей теоретической биофизики.

В данной статье мы приводим результаты исследований весьма специальной математической модели рабочего цикла фермента, которая удерживает многомасштабность конформационной динамики белка уже в силу своей конструкции. Такую математическую модель удастся построить в рамках представления многомерных сильно пересеченных ландшафтов иерархией вложенных друг в друга бассейнов локальных минимумов и аппроксимации динамики системы ультраметрическим случайным процессом. Следует отметить, что ультраметрическое описание динамики белка, хорошо согласующееся с особенностями ферментативной кинетики на широкой шкале временных масштабов, было построено в работах [1–3; 9; 10; 14], а соответствующая этому описанию модель рабочего цикла фермента была анонсирована в [13]. В данной работе мы остаемся в русле этих же идей, но приводим результаты разносторонних исследований ультраметрической модели рабочего цикла фермента, расширяющие представления о регуляции ферментативной активности.

В излагаемом ниже подходе к описанию конформационной динамики белка мы отчасти полемизируем с работой [18], в которой была предложена одна из первых, насколько нам известно, теоретических моделей, связывающая явно конформационную динамику белка и его функцию. Аналогичные в своих принципиальных положениях модели имеются и в существенно более поздних работах, посвященных описанию функциональных циклов различных белков, в частности, так называемых "молекулярных моторов" (см, например, [5; 6]). В отношении всех этих работ, работа [18] представляется не только пионерской, но и основополагающей. Сразу подчеркнем, что использованная в [18] идея воспринимать конформационную динамику белка как случайный процесс, развивающийся в пространстве конформационных состояний белка, физически оправдана и конструктивна. Мы используем эту же идею. Однако предложенная в [18] модель, сводящая конформационную динамику белка к одномерной диффузии в потенциальном поле, по-видимому, является слишком упрощенной, лишаящей белковую динамику ее главных особенностей — многомасштабности и многомерности конформационных изменений. Эти особенности представляются важными для работы ферментов, поскольку отсутствие характерного масштаба движений в сочетании с многомерностью пространства состояний может приводить к критическим динамическим режимам. Такие ожидания оказываются оправданными и для ферментативной активности. Мы показываем, что присущая конформационной динамике белка многомасштабность предполагает более богатую связь между динамикой белка и его функцией, порождая, в частности, различные режимы работы цикла с высокой чувствительностью к изменениям управляющих параметров в относительно узкой области.

Статья построена следующим образом. Мы начинаем с общей для [18] и [13] архитектуры модели рабочего цикла фермента и краткого комментария к основным допущениям, сделанным в [18]. Затем, мы излагаем идею многомасштабного описания конформационной динамики белка, описываем ультраметрическую модель рабочего цикла фермента, акцентируя внимание на ее особенностях и отличии от модели [18], приводим результаты наших исследований и даем им физическую интерпретацию.

2. Архитектура модели

Как и в [18], рассматриваемая нами модель работы фермента построена по схеме циклического присоединения и отсоединения низкомолекулярного лиганда к белковой молекуле. В простейшем варианте этой схемы имеется два основных (равновесных) состояния системы белок–лиганд, одно из которых (E_1) относится к белку, связанному с лигандом, а другое (E_2) — к белку без лиганда. Предполагается, что состояния E_1 и E_2 относятся к существенно различным конформациям белковой молекулы. Присоединение лиганда к белку, находящемуся в состоянии E_2 , запускает конформационные перестройки из состояния E_2 к состоянию E_1 . Отсоединение лиганда от белка, достигшего состояния E_1 , запускает конформационные перестройки в обратном направлении — от состояния E_1 к состоянию E_2 . Таким образом, функция белка (связывание лиганда) управляется циклическими конформационными перестройками между состояниями E_1 и E_2 .

Формально, такой рабочий цикл можно описать следующим образом. Пусть пространство B конформационных состояний белковой молекулы задано, x есть конформационное состояние из этого пространства, и равновесные состояния связанного и несвязанного белка ($E_1 \equiv x_1$ и $E_2 \equiv x_2$) лежат в достаточно удаленных друг от друга областях $O_1 \subset B$ и $O_2 \subset B$, соответственно. Пусть $P_1(x, t)$ есть распределение концентраций связанных белковых молекул по конформационным состояниям x в момент времени t и $P_2(x, t)$ есть распределение для несвязанных белковых молекул. Суммарная по всем состояниям x концентрация связанных и несвязанных белков в рабочем цикле сохраняется:

$$\int_B (P_1(x, t) + P_2(x, t)) dx = 1. \quad (2.1)$$

Распределение $P_1(x, t)$ (соответственно, $P_2(x, t)$) можно понимать как переходную функцию случайного процесса $x(t)$, представляющего конформационную динамику связанного (соответственно, несвязанного) белка, т.е. как плотность вероятности обнаружить связанный (соответственно, несвязанный) белок в состоянии x в момент времени t , при условии, что в начальный момент времени ($t = 0$) он находился в некотором наперед заданном состоянии x_0 .

В этих представлениях функциональный цикл описывается системой кинетических уравнений вида:

$$\begin{aligned} \frac{\partial P_1(x, t)}{\partial t} &= [\mathbf{D}_x P_1](x, t) + \lambda_1(x) P_1(x, t) - \lambda_2(x) P_2(x, t) \\ \frac{\partial P_2(x, t)}{\partial t} &= [\mathbf{D}_x P_2](x, t) - \lambda_1(x) P_1(x, t) + \lambda_2(x) P_2(x, t), \end{aligned} \quad (2.2)$$

где формально введенный оператор \mathbf{D}_x определяет случайный процесс, моделирующий конформационную динамику белка, а $\lambda_1(x)$ и $\lambda_2(x)$ есть константы скоростей реакций образования и разрыва связи между белковой молекулой и лигандом, принимающие ненулевые значения только в областях O_1 и O_2 , соответственно. Предполагается, что концентрация низкомолекулярного лиганда в реакционном объеме поддерживается постоянной, т.е. реакции связывания и разрыва мономолекулярные.

Оператор \mathbf{D}_x является ключевым ингредиентом модели, и его явное определение требует каких-то предположений, упрощающих описание энергетического ландшафта белка. В его отношении авторы [18] сделали два принципиальных предположения.

Они предположили, что значимая для функции конформационная динамика существенно низкоразмерная и в простейшем случае может быть представлена одномерной диффузией в потенциале с энергетически выделенным основным состоянием (E_1 и E_2) и большим числом энергетически более высоких квазиравновесных состояний (локальных минимумов), разделенных барьерами. Иначе говоря, в модели [18] энергетический ландшафт белка предполагается низкоразмерным (одномерным) и сильно пересеченным. Далее, для описания такого ландшафта авторы [18] ввели два характерных масштаба, меньший из которых относился к многочисленным барьерам, разделяющим локальные минимумы, а больший — к общей форме потенциала, задающей основное состояние системы. Эти предположения позволили заменить нетривиальную задачу о стохастической динамике на многомерной сильно пересеченной потенциальной поверхности вполне стандартной задачей об одномерной диффузии во внешнем поле и выбрать в качестве основы описания конформационной динамики белка уравнение Фоккера-Планка

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{kT} P(x, t) \frac{\partial U(x)}{\partial x} \right]. \quad (2.3)$$

В уравнении 2.3 $P(x, t)$ есть распределение плотности вероятности вдоль "конформационной прямой" x , $U(x)$ — потенциал с энергетическим минимумом в некотором состоянии x_0 , D — коэффициент "конформационной диффузии", зависящий от температуры T и "вязкости" конформационного пространства, и k — константа Больцмана. Поскольку "вязкость" конформационного пространства связана с преодолением локальных барьеров, разделяющих конформационные состояния, предполагается, что коэффициент конформационной диффузии D зависит от температуры экспоненциально.

Соответственно всем этим допущениям, рабочий цикл фермента описывает система двух кинетических уравнений вида "реакция-диффузия":

$$\begin{aligned} \frac{\partial P_1(x, t)}{\partial t} &= D \frac{\partial^2 P_1(x, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{kT} P_1(x, t) \frac{\partial U_1(x)}{\partial x} \right] + \lambda_1(x) P_1(x, t) - \lambda_2(x) P_2(x, t), \\ \frac{\partial P_2(x, t)}{\partial t} &= D \frac{\partial^2 P_2(x, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{kT} P_2(x, t) \frac{\partial U_2(x)}{\partial x} \right] - \lambda_1(x) P_1(x, t) + \lambda_2(x) P_2(x, t), \end{aligned} \quad (2.4)$$

где $U_1(x)$ и $U_2(x)$ — модельные потенциалы с минимумами в x_1 и x_2 , отвечающими основным состояниям E_1 и E_2 находящимся на "конформационном расстоянии" L . Релаксация к основному состоянию x_1 управляется потенциалом $U_1(x)$, обратная релаксация к состоянию x_2 — потенциалом $U_2(x)$, а присоединение и отсоединение лиганда в состояниях x_1 и x_2 , перебрасывает систему с энергетически более низкого уровня на более высокий согласно значениям $U_1(x)$ и $U_2(x)$ в этих состояниях.

Отталкиваясь от таких представлений и рассмотрев стационарное решение уравнений (2.4) авторы [18] заключили, что время рабочего цикла определяется, главным образом, соотношением $\tau = L/2D$ т.е. временем смещения диффузионного фронта между функционально активными состояниями x_1 и x_2 . Поскольку коэффициент диффузии D , а с ней и величина τ , экспоненциально зависят от T , то в тех случаях, когда лимитирующая стадия ферментативного цикла связана с конформационной динамикой белка, кинетика ферментативной реакции является аррениусовской, т.е. экспоненциально чувствительна к изменениям температуры, и никаких других особенностей в регуляции ферментативной активности не имеется.

Вместе с тем, хорошо известно, что у большинства ферментативных реакций скорость реакции зависит от температуры не только не экспоненциально, но даже и не монотонно, демонстрируя максимумы активности в относительно узком температурном интервале. Весьма показательной в этом отношении является кинетика связывания СО миоглобином, детально исследованная в работах [8; 11]. Примечательно, что эти эксперименты отмечались и в [18], где по этому поводу было заявлено, что модель (2.4) находится в согласии с данными работами. Нам же представляется обратное — модель (2.4) явно противоречит свойствам, установленным в [8; 11].

В экспериментах [8; 11] связанные с СО молекулы миоглобина облучали лазерным импульсом, разрывающим связь СО с гемовым железом в активном центре миоглобина, и затем следили за кинетикой обратного связывания миоглобина с СО на большой шкале временных масштабов (10^{-7} div 10^2 сек) и в широком диапазоне температур от 300К до 60К. Нетрудно видеть, что эксперимент прямо соответствует стадии присоединения лиганда к белку в описанном выше рабочем цикле и, следовательно, должен описываться моделью (2.4). Сопоставим экспериментальные данные со свойствами модели (2.4). В работах [8; 11] были выявлены две особенности кинетики связывания СО миоглобином. Во-первых, выяснилось, что кинетика связывания, контролируемая конформационной динамикой белка, является степенной, а не экспоненциальной, во всем исследованном диапазоне временных масштабов от 10^{-7} сек и до 10^2 сек. Этот факт прямо противоречит предположению о том, что пересеченность ландшафтного рельефа может быть эффективно усреднена и представлена "вязкостью" конформационного пространства. Во-вторых, выяснилось, что с уменьшением температуры от 300К до 200К скорость реакции связывания растет, но при дальнейшем снижении температуры она падает. Такая аномальная температурная зависимость также не согласуется с моделью (2.4). Действительно, общее решение уравнения

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{kT} P(x, t) \frac{\partial U(x)}{\partial x} \right] - \lambda(x) P(x, t), \quad (2.5)$$

как известно, имеет вид

$$P(x, t) = \sum_{n=0}^{\infty} L(x, A_n, B_n, \gamma_n) e^{-\gamma_n D t}, \quad (2.6)$$

где функциональная зависимость $L(x)$ определяется функциями $\lambda(x)$ и $U(x)$, т.е. расположением реакционного стока и формой потенциала, а параметры A_n, B_n, γ_n задаются граничными и начальными условиями. Отсюда нетрудно видеть, что температурное поведение решения (2.6) определяется только зависимостью коэффициента диффузии D от температуры и никакого аномального поведения модели 2.4 тут ожидать не приходится.

Мы полагаем, что модель (2.4) не согласуется с конформационно зависимой кинетикой ферментативного связывания именно в своих основных положениях. Составленные на ее основе представления о конформационной динамике белка представляются нам слишком огрубленными и отчасти неверными. Это же можно отнести и к выводу, сделанному в [18] в отношении регуляции ферментативной активности.

3. Многомасштабное описание конформационной динамики белка

Многомасштабное описание конформационной динамики белка, согласованное с особенностями кинетики связывания СО миоглобином, дано в [1; 10; 14]. Здесь мы изложим только основные идеи этого подхода и поясним некоторые аналитические конструкции, которые используются ниже в нашей модели.

В основе подхода лежит идея иерархического масштабирования сложных энергетических рельефов с помощью эквипотенциальных сечений, подобно тому, как это делается, например, в топографии (см, например, [12]). Применяя этот прием в отношении сильно пересеченного ландшафта, можно построить иерархию вложенных друг в друга "бассейнов" локальных минимумов, в которой каждый бóльший бассейн состоит из меньших бассейнов, каждый из них состоит из еще меньших бассейнов *etc.* Соответственно, в этой картине бассейны локальных минимумов будут разделены иерархией барьеров: бóльшие бассейны — более высокими барьерами, а меньшие бассейны внутри бóльших — более низкими барьерами. Многомасштабность такого представления сохраняется по построению, но исходная метрика многомерного (евклидова) пространства состояний теряется.

Иерархия бассейнов естественным образом представляется в виде ветвящегося дерева, концевые узлы которого (листья дерева) отвечают локальным минимумам ландшафта, а поддерева — бассейнам. В частности, регулярному дереву с фиксированным индексом ветвления p отвечает самоподобная иерархия бассейнов. В этих представлениях, образом пространства состояний системы является граница дерева (множество концевых узлов $i = 1, 2, \dots$), а образом динамики системы — случайный процесс на границе дерева, представляющий собой скачкообразные переходы между конечными узлами-листьями. Каждое состояние системы i параметризуется ветвью дерева, идущей от корня к границе, и любые два состояния отличаются несовпадающей частью соответствующей пары ветвей (эти ветви расходятся в вершине минимального поддерева, содержащего данные состояния). Такая параметризация отвечает метрике, подчиненной сильному неравенству треугольника $d(i, k) \leq \max(d(i, j), d(j, k))$. В результате, представление многомерного пересеченного ландшафта иерархией вложенных друг в друга бассейнов есть просто замена исходного многомерного пространства состояний с обычной (евклидовой) метрикой ультраметрическим пространством состояний. Заметим, что близкие в евклидовой метрике локальные минимумы могут ультраметрике оказаться далекими, если переход между ними сопряжен с преодолением высокого барьера, и наоборот.

Для регулярного дерева бассейнов с фиксированным индексом ветвления p картина выглядит достаточно просто. Для любых двух состояний (листьев) i и j , имеется одно (и только одно) минимальное поддерево, которому они принадлежат. Уровень иерархии $\gamma(i, j)$, $\gamma = 1, 2, \dots, \gamma_{\max}$, на котором лежит вершина этого поддерева, определяет все важные для описания величины, например, масштаб минимального поддерева-бассейна (в нем $p^{\gamma(i, j)}$ состояний), ультраметрическое расстояние между состояниями i и j (равное $p^{\gamma(i, j)}$), максимальный барьер $H_{\gamma(i, j)}$, лежащий на пути перехода из одного состояния в другое и ассоциируемый либо с переходным состоянием на пути из i в j , либо с характерным временем $\sim (p^{\gamma(i, j)})^\alpha$, $\alpha > 0$, выхода из минимального общего для i и j бассейна. Соответственно, константы скоростей переходов между состояниями определяются только номером уровня $\gamma(i, j)$ в иерархии бассей-

нов, а матрица переходов имеет характерный для *ультраметрического* случайного блуждания блочно-иерархический вид (см. рисунок 3.1).

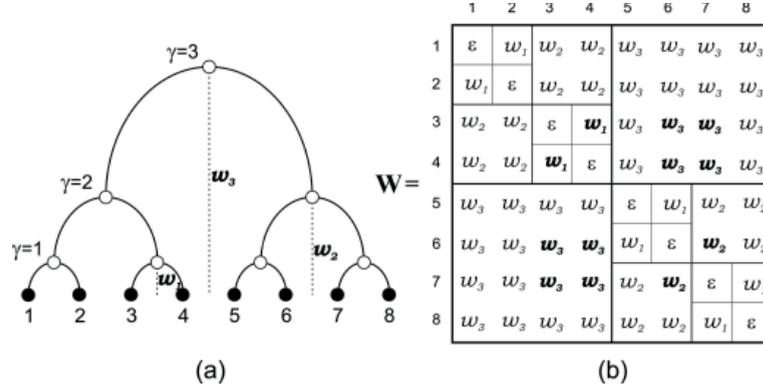


Рис. 3.1. (а) Регулярно-ветвящееся 2-адическое трехуровневое дерево бассейнов: $\gamma = 1, 2, 3$ — уровни иерархии, w_γ — константы переходов между листьями на границе дерева. (б) Блочно-иерархическая структура матрицы переходов между листьями

Отметим, что блочно-иерархический вид матрицы переходов сохраняется и для нерегулярно ветвящегося дерева, хотя в этом случае блоки, принадлежащие одному и тому же уровню γ , могут иметь разные размеры.

Опишем теперь случайное блуждание на границе дерева. Пусть $P(i, t|i_0, 0)$ (для краткости $P(i, t)$) есть переходная функция процесса, т.е. вероятность найти систему в состоянии i в момент времени t при условии, что в начальный момент времени она находилась в состоянии i_0 . Переходная функция определяет вероятностную меру всех траекторий длины t , стартующих из состояния i_0 и заканчивающихся в i . Подчиним переходную функцию $P(i, t)$ основному кинетическому уравнению (уравнению Колмогорова-Феллера) вида

$$\frac{\partial P(i, t)}{\partial t} = \sum_{i \neq j} w(i|j)P(j, t) - \sum_{i \neq j} w(j|i)P(i, t) \quad (3.1)$$

с начальным условием $P(i, 0) = \delta(i - i_0)$, где $w(i|j)$ — константа перехода из состояния j в состояние x . Полагая, что характерное время выхода из бассейна растет с ростом масштаба бассейна, и что при переходе в бассейн из другого бассейна система с равной вероятностью может оказаться в любом из его состояний, запишем константу перехода в виде $w(i|j) = w_0 p^{-(\alpha+1)\gamma(i,j)}$, где w_0 — размерный коэффициент. Уравнение (3.1) тогда примет вид

$$\frac{\partial P(i, t)}{\partial t} = \sum_{i \neq j} w(|i - j|_p)P(j, t) - \sum_{i \neq j} w(|i - j|_p)P(i, t) \quad (3.2)$$

где $|i - j|_p = p^{\gamma(i,j)}$ есть ультраметрическое расстояние между состояниями i и j .

Непрерывный предел для описанной выше дискретной модели (см. [2; 14]) приводит к p -адическому уравнению *ультраметрической диффузии*. (Для ознакомления с основами p -адического анализа можно обратиться, например, к [16]). Схема такого перехода выглядит следующим образом. Каждому листу i на границе дерева ставится в соответствие рациональное число x :

$$i \longleftrightarrow x = p^{-r} (a_0 + a_1 p + \dots + a_{m-1} p^{m-1}), \quad (3.3)$$

где p — простое число (индекс ветвления дерева), $0 \leq a_k \leq p-1$, $k = 0, 1, \dots, m-1$ и r — некоторое целое число. На множестве рациональных чисел $\{x\}$ вида (3.3) вводится p -адическая норма $|\dots|_p$, определяемая как

$$|x|_p = |p^{-r} (a_0 + a_1 p + \dots + a_s p^s \dots + a_{m-1} p^{m-1})|_p = p^r$$

если $a_0 = a_1 = \dots = a_{s-1} = 0$ и $a_s \neq 0$. Тогда в пределе $m \rightarrow \infty$ при фиксированном r множество $\{x\}$, каждый элемент которого представляется бесконечным рядом

$$x = p^{-r} \sum_{i=0}^{\infty} a_i p^i, \quad (3.4)$$

сходящимся по p -адической норме $|\dots|_p$, становится подмножеством B_r (p -адическим шаром радиуса p^r) поля p -адических чисел \mathbb{Q}_p . В пределе $r \rightarrow \infty$ множество B_r переходит в поле \mathbb{Q}_p . Любой элемент \mathbb{Q}_p однозначно представим в виде (3.4). На поле \mathbb{Q}_p можно ввести метрику $d(x, y) = |x - y|_p$, которая превращает \mathbb{Q}_p в полное, сепарабельное, вполне несвязное, локально компактное ультраметрическое пространство.

В результате двойного предельного перехода $\{m \rightarrow \infty, r \rightarrow \infty\}$ состояния системы x становятся элементами поля p -адических чисел \mathbb{Q}_p , а уравнение (3.2) переходит в p -адическое уравнение Колмогорова–Феллера для однородного стационарного марковского процесса на \mathbb{Q}_p :

$$\frac{\partial}{\partial t} P(x, t) = \int_{\mathbb{Q}_p} w(|x - y|_p) (P(y, t) - P(x, t)) d_p y. \quad (3.5)$$

В уравнении (3.5), величина

$$w(|x - y|_p) = \lim_{t' \rightarrow t} \frac{P(y, t' | x, t)}{|t' - t|},$$

где $P(y, t' | x, t) = P(|x - y|_p, t' - t)$ — переходная функция процесса, задает константы переходов между состояниями x и y .

Заметим, что функция $w(|x - y|_p)$ может иметь разный вид, т.е. уравнение (3.5) описывает семейство ультраметрических случайных процессов. Конкретный вид функции $w(|x - y|_p)$ в той или иной модели выбирается из соображений согласования свойств модели со свойствами рассматриваемой системы. В случае конформационной динамики белка выбор функции $w(|x - y|_p)$ согласован с особенностями кинетики связывания СО миоглобином. Как было показано в [9], этому требованию отвечает функция вида $w(|x - y|_p) = |x - y|_p^{-(\alpha+1)}$, где параметр $\alpha > 0$ имеет смысл обратной температуры ($\alpha \sim T_0/T$, T_0 некоторая реперная температура). Таким образом, в рассматриваемой нами ультраметрической модели рабочего цикла фермента конформационная динамика белка описывается не уравнением Фоккера–Планка, как в [18], а p -адическим уравнением ультраметрической диффузии вида

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} = \int_{B_r} \frac{P(y, t) - P(x, t)}{|y - x|_p^{\alpha+1}} d_p y, \quad (3.6)$$

где $B_r \subset \mathbb{Q}_p$ — ультраметрический шар, задающий пространство конформационных состояний белка, и $d_p y$ — мера интегрирования (мера Хаара) на \mathbb{Q}_p . Многомасштабность конформационной динамики белка в таком описании удерживается по

построению. Примечательно, что функция переходов вида $w(|x - y|_p) = |x - y|_p^{-(\alpha+1)}$ отвечает самоподобному энергетическому ландшафту, причем такому, на котором барьеры, разделяющие бассейны, растут с уровнем иерархии линейно. Заметим, что масштабное самоподобие может иметь вполне общее отношение к функциональным макромолекулярным структурам типа молекулярных машин (см., например, [4; 7]).

4. p -Адическая модель рабочего цикла и предельные режимы

Переопределим модель (2.4) рабочего цикла фермента, рассматривая уравнение (3.6) как основу многомасштабного описания конформационной динамики белка. Пусть пространство конформационных состояний белка, на котором осуществляется рабочий цикл, есть ультраметрический шар $B_r = \{x \in \mathbb{Q}_p : |x|_p \leq p^r\}$ радиуса p^r , $r \gg 1$. В этом случае действие оператора \mathbf{D}_x на функцию распределения $P(x, t)$ задается уравнением

$$[\mathbf{D}_x P](x, t) = \int_{B_r} \frac{P(y, t) - P(x, t)}{|y - x|_p^{\alpha+1}} d_p y$$

и, согласно модели (2.2), полный цикл описывается системой уравнений

$$\begin{aligned} \frac{\partial P_1(x, t)}{\partial t} &= \int_{B_r} \frac{P(y, t) - P(x, t)}{|y - x|_p^{\alpha+1}} d_p y + \lambda_1 \Omega(|x|_p) P_2(x, t) - \lambda_2 \Omega(|x - a|_p) P_1(x, t) \\ \frac{\partial P_2(x, t)}{\partial t} &= \int_{B_r} \frac{P(y, t) - P(x, t)}{|y - x|_p^{\alpha+1}} d_p y - \lambda_1 \Omega(|x|_p) P_2(x, t) + \lambda_2 \Omega(|x - a|_p) P_1(x, t), \end{aligned} \quad (4.1)$$

где распределения $P_1(x, t)$ и $P_2(x, t)$ относятся соответственно к связанному и несвязанному состояниям белка, λ_1 и λ_2 есть константы реакции образования и разрыва химической связи между лигандом и белком, а функция $\Omega(|z|_p)$

$$\Omega(|z|_p) \equiv \begin{cases} 1, & |z|_p \leq 1 \\ 0, & |z|_p > 1, \end{cases}$$

есть индикатор ультраметрического шара единичного радиуса с центром в точке $z = 0$. Соответственно, ультраметрический шар $\Omega(|x|_p)$ с центром в точке $x = 0$ определяет область, в которой белок связывается с лигандом, т.е. область O_1 , ультраметрический шар $\Omega(|x - a|_p)$ с центром в точке $x = a$ определяет область O_2 , в которой белок освобождается от лиганда. Расстояние $|a|_p = p^m$ между этими областями задается параметром $0 < m < r$. Отметим, что тот факт, что области O_1 и O_2 в описании выше представлены ультраметрическими шарами единичного радиуса, не существенен. Важно лишь то, что эти области малы в сравнении с B_r .

Метод решения задач Коши для системы уравнений (4.1) обсуждался в [13]. Явно выписать полное решение тут не удастся, однако для наших целей достаточно иметь стационарное решение $P_{1st}(x)$ уравнений (4.1) и оценку характерного времени τ осуществления одного рабочего цикла. Стационарное решение уравнений (4.1)

выписывается явно:

$$\begin{aligned} P_{1st}(x) &= p^{-r} \cdot \frac{\lambda_1 + \lambda_1 \lambda_2 \left(I(0) - I(|a|_p) + I(|x|_p) - I(|x - a|_p) \right)}{\lambda_1 + \lambda_2 + 2\lambda_1 \lambda_2 \left(I(0) - I(|a|_p) \right)} \\ P_{2st}(x) &= p^{-r} \cdot \frac{\lambda_2 + \lambda_1 \lambda_2 \left(I(0) - I(|a|_p) - I(|x|_p) + I(|x - a|_p) \right)}{\lambda_1 + \lambda_2 + 2\lambda_1 \lambda_2 \left(I(0) - I(|a|_p) \right)}, \end{aligned} \quad (4.2)$$

где

$$\begin{aligned} I(|x|_p) &= \sum_{i=n}^{r-1} p^{-i} (1 - p^{-1}) \left(p^{-\alpha i} - (1 - p^{-1}) \frac{p^{-\alpha r}}{1 - p^{-\alpha-1}} \right)^{-1} - \\ &- \left(p^{\alpha(1-n)} - (1 - p^{-1}) \frac{p^{-\alpha r}}{1 - p^{-\alpha-1}} \right)^{-1} p^{-n} (1 - \Omega(|x|_p)) \end{aligned} \quad (4.3)$$

и n определяется из условия $|x|_p = p^n$. Отсюда непосредственно вычисляется стационарная концентрация $S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m)$ всех белковых молекул, находящихся в связанном состоянии:

$$S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m) = \int_{B_r} P_{1st}(x) d_p x = \frac{\lambda_1 + \lambda_1 \lambda_2 \cdot [I(0) - I(p^m)]}{\lambda_1 + \lambda_2 + 2\lambda_1 \lambda_2 \cdot [I(0) - I(p^m)]}. \quad (4.4)$$

Поверхность $S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m)$ над пространством параметров мы называем ландшафтом стационарных состояний рабочего цикла. Особенности этого ландшафта описаны в следующем разделе.

Что касается характерного времени τ , то оно определяется наиболее медленными стадиями рабочего цикла. В одних случаях ими могут оказаться стадии образования и разрыва химической связи между лигандом и белком, и такой режим работы цикла мы будем называть режимом кинетического контроля. В других случаях наиболее медленная стадия может определяться конформационными перестройками белка, и этот режим естественно назвать режимом диффузионного контроля. В этом смысле особенности распространения фронта ультраметрической диффузии оказываются важными для работы цикла.

Действительно, рассмотрим решение $P(x, t)$ задачи Коши для уравнения (3.6) с начальным условием $P(x, 0) = \Omega(|x|_p)$. Это решение имеет вид (см. [2; 9; 10]):

$$\begin{aligned} P(x, t) &= (1 - p^{-1}) |x|_p^{-1} \sum_{\gamma=0}^{+\infty} p^{-\gamma} \Omega \left(\frac{p^{-\gamma}}{|x|_p} \right) \exp \left\{ \frac{p^{-\alpha \gamma}}{|x|_p^\alpha} \Gamma_p(-\alpha) w_0 t \right\} - \\ &- |x|_p^{-1} \Omega \left(\frac{p}{|x|_p} \right) \exp \left\{ \frac{p^\alpha}{|x|_p^\alpha} \Gamma_p(-\alpha) w_0 t \right\}. \end{aligned} \quad (4.5)$$

Зная распределение $P(x, t)$, нетрудно вычислить среднее ультраметрическое расстояние

$$\delta(t) = \int_{\mathbb{Q}_p} |x|_p P(x, t) d_p x, \quad (4.6)$$

на которое переместится диффузионный фронт к моменту времени t , и убедиться, что интеграл (4.6) конечен только при $\alpha > 1$. При $\alpha \leq 1$ интеграл (4.6) расходится и

величина $\delta(t)$ не определена. Таким образом, в отличие от обычной диффузии, о скорости распространения фронта ультраметрической диффузии можно говорить только когда $\alpha > 1$, т.е. когда диффузия "медленная". Диффузионно-контролируемый режим работы цикла соответствует именно этим условиям, и для оценки времени τ здесь можно использовать простое соотношение $\delta(\tau) = p^m$.

В противоположность этому, при $1 \geq \alpha > 0$ ультраметрическая диффузия протекает настолько быстро, что значения $P(x, t)$ почти сразу оказываются не малы во всех точках пространства состояний. Как показано в [3], в этом режиме мера невозвратных (в неограниченном пространстве) траекторий оказывается ненулевой и при $\alpha \rightarrow 0$ стремится к 1. Делокализация диффузионного фронта происходит скачкообразно, в точке $\alpha = 1$, и это одна из важных особенностей ультраметрической диффузии.

Если пространство состояний ограничено, как в модели (4.1), то невозвратных траекторий, естественно, нет, и быстрая диффузия проявляет себя в том, что типичные траектории вначале уходят в удаленные области пространства состояний и лишь затем возвращаются в близлежащие области. Для моделей типа реакция-диффузия такая картина физически отвечает быстрому перемешиванию. В этих условиях и возникает кинетически-контролируемый режим работы цикла. Отметим, что поскольку полное пространство конформационных состояний белка B_r много больше функционально активных областей O_1 и O_2 , то при быстром перемешивании на всем B_r стационарные распределения $P_{1st}(x)$ и $P_{2st}(x)$ будут почти везде однородными и концентрация связанных и не связанных белковых молекул будет практически одинаковой

$$\int_{B_r} P_{1st}(x) d_p x \approx \int_{B_r} P_{2st}(x) d_p x$$

даже при $\lambda_1 \neq \lambda_2$. Более детально такие режимы мы тоже обсудим ниже.

Существование определенного значения α , при котором фронт ультраметрической диффузии скачкообразно делокализуется, предполагает, что переход от режима диффузионного контроля к режиму кинетического контроля тоже может происходить в относительно узкой области значений параметров системы. В этом состоит одно из существенных отличий модели (4.1) от модели (2.4) из работы [18].

5. Ландшафт стационарных состояний рабочего цикла

Отклик стационарной концентрации S связанных белковых молекул на изменения параметров α , λ_1 , λ_2 и m позволяет составить представление о регуляции ферментативной активности при различных воздействиях на белковую молекулу или окружающую среду. Действительно, параметр α задает константы конформационных переходов, $w(x|y) = |x - y|_p^{\alpha+1}$ (см. уравнение (3.6)) и в этом смысле управляет конформационной подвижностью белковой молекулы. Большим значениям α соответствует более низкая конформационная подвижность белковой молекулы, что может иметь место, например, при понижении температуры, изменении вязкости среды, ее ионного состава, погружении белковой молекулы в клеточную мембрану, или ее нагружении высокомолекулярными соединениями. Изменение констант образования и разрыва химической связи между лигандом и белком (λ_1 и λ_2), помимо стандартной температурной зависимости, может быть обусловлено, например, химическими модификациями лиганда или центра связывания в белке. Наконец, параметр

m устанавливает, как далеко друг от друга расположены те функционально активные конформационные состояния (O_1 и O_2), в которых белок связывается с лигандом и освобождается от него. Выбирая то или иное m , мы задаем глубину конформационных перестроек, которая требуется для осуществления рабочего цикла. Величина m , образно говоря, задает "рабочий ход" белковой машины и может зависеть, например, от пути химического превращения исходного субстрата в конечный продукт.

Таким образом, все параметры модели (4.1) имеют вполне прозрачную физическую интерпретацию.

Обсудим теперь чувствительность стационарного состояния $S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2)$ к изменению параметров рабочего цикла и, прежде всего, параметра α , управляющего конформационной подвижностью белка. Как уже отмечалось выше, важно, в какой области значений параметра α работает фермент — выше или ниже точки делокализации диффузионного фронта. Это наглядно демонстрирует поведение величины $\Delta I = I(0) - I(p^m)$ в выражении (4.4) от α , показанное на рисунке 5.1.

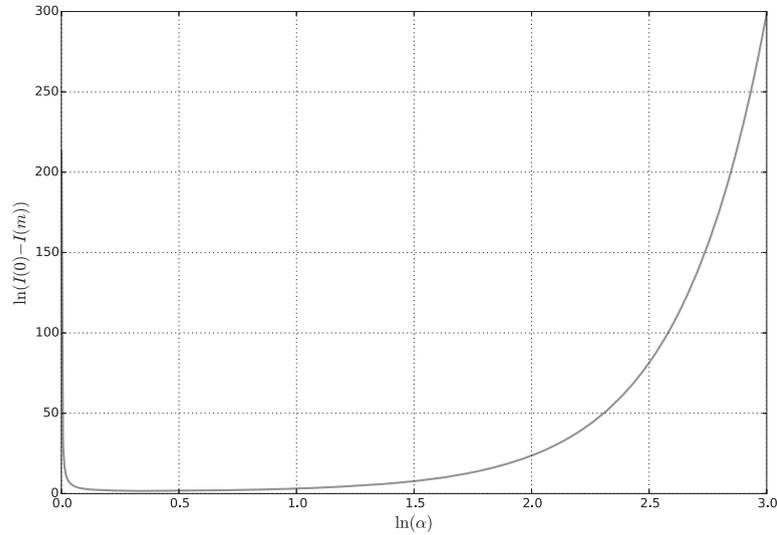


Рис. 5.1. Поведение величины $\Delta I = I(0) - I(p^m)$ из выражения (4.4) в зависимости от α

Отметим, прежде всего, что в той области значений α , в которой диффузионный фронт локализован ($\alpha > 1$), величина $\Delta I(m, \alpha)$ растет с ростом α , причем при достаточно больших α растет экспоненциально, как $\Delta I(m, \alpha) \sim e^{k(m)\alpha}$, где $k(m)$ зависит от m линейно. Действительно, используя выражение (4.3) и приняв во внимание, что в рассматриваемом случае $m \geq 1$ и $(1 - \Omega(p^m)) = 1$, запишем явное выражение для $\Delta I(m, \alpha)$

$$\Delta I(m, \alpha) = \sum_{i=0}^{m-1} p^{-i} (1 - p^{-1}) \left(p^{-\alpha i} - (1 - p^{-1}) \frac{p^{-\alpha r}}{1 - p^{-\alpha-1}} \right)^{-1} - \left(p^{\alpha} - (1 - p^{-1}) \frac{p^{-\alpha r}}{1 - p^{-\alpha-1}} \right)^{-1} + \left(p^{\alpha(1-m)} - (1 - p^{-1}) \frac{p^{-\alpha r}}{1 - p^{-\alpha-1}} \right)^{-1} p^{-m}.$$

Отсюда для больших α получаем

$$\Delta I(m, \alpha) \xrightarrow{\alpha \gg 1} p^{(m-1)(\alpha-1)}.$$

Из выражения выше нетрудно также увидеть, что величина $\Delta I(m, \alpha)$ расходится и при $\alpha \rightarrow 0$.

Между этими крайними значениями α , величина $\Delta I(m, \alpha)$ ведет себя монотонно. Там, где диффузионный фронт делокализован ($\alpha < 1$), величина $\Delta I(m, \alpha)$ мала почти везде и для этих значений из выражения (4.4) имеем

$$S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2) \approx \frac{\lambda_1}{\lambda_1 + \lambda_2},$$

что и соответствует кинетически-контролируемому режиму работы цикла. В этом режиме стационарные состояния S нечувствительны к изменениям α , но чувствительны к изменениям параметров λ_1 и λ_2 . В режиме кинетического контроля стационарное состояние симметрично ($S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m) = 0,5$) только при $\lambda_1 = \lambda_2$.

Примечательно, что режим кинетического контроля сохраняется практически до значений $\alpha \sim 1$ и лишь при $\alpha > 1$, когда диффузионный фронт становится локализованным, вклад $\Delta I(m\alpha)$ в $S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m)$ становится существенным. При достаточно больших α этот вклад оказывается доминирующим, чувствительность к изменениям λ_1 и λ_2 теряется, рабочий цикл переходит в диффузионно-контролируемый режим и стационарное состояние восстанавливает симметрию ($S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m) \sim 0,5$) даже при $\lambda_1 \neq \lambda_2$. Симметрия стационарного состояния в этом режиме обусловлена просто тем, что работу цикла тут лимитирует время прохождения диффузионного фронта между областями O_1 и O_2 , а в прямом и обратном направлениях это время одинаковое. Заметим, что в диффузионно-контролируемом режиме характерный масштаб той области конформационного пространства, в которой осуществляется рабочий цикл, определяется "рабочим ходом" цикла, т.е. ультраметрическим расстоянием p^m . При этом, большая часть конформационного пространства B_r не используется и остается в в этом режиме "темной".

Как уже отмечалось, интерес представляет и тот факт, что $\Delta I(m, \alpha) \rightarrow \infty$ не только в "низкотемпературном пределе" ($\alpha \rightarrow \infty$) но и в "высокотемпературном пределе" ($\alpha \rightarrow 0$). При достаточно малых α вклад $\Delta I(m, \alpha)$ в выражении (4.4) тоже оказывается доминирующим, стационарное решение $S(\alpha, \lambda_1, \lambda_2, m)$ теряет чувствительность к изменениям λ_1 и λ_2 и состояние становится симметричным (см. рисунок 5.2).

Следует, однако, понимать принципиальное отличие тех причин, из-за которых возникает симметричное состояние при низкой и высокой конформационной подвижности белка. При низкой конформационной подвижности причина в диффузионно-контролируемом режиме. При высокой конформационной подвижности, напротив, имеет место быстрое перемешивание — типичные траектории вначале уходят в удаленные области пространства состояний и лишь затем возвращаются в близлежащие области. При достаточно малых значениях α быстрое перемешивание устанавливается на всем B_r и стационарное распределение $P_{1st}(x)$ становится однородным почти на всем пространстве за исключением функционально активных областей O_1 и O_2 , в которых непосредственно действуют "химический сток" и "химический источник". Поскольку полное пространство состояний B_r много больше области рабочего хода цикла, оно и определяет основной вклад в S , и симметрия стационарного состояния восстанавливается просто из-за того, что мера таких состояний для связанных и несвязанных белковых молекул одинакова. Важно подчеркнуть, что в подобных высокотемпературных режимах важную роль играет именно та часть конформаци-

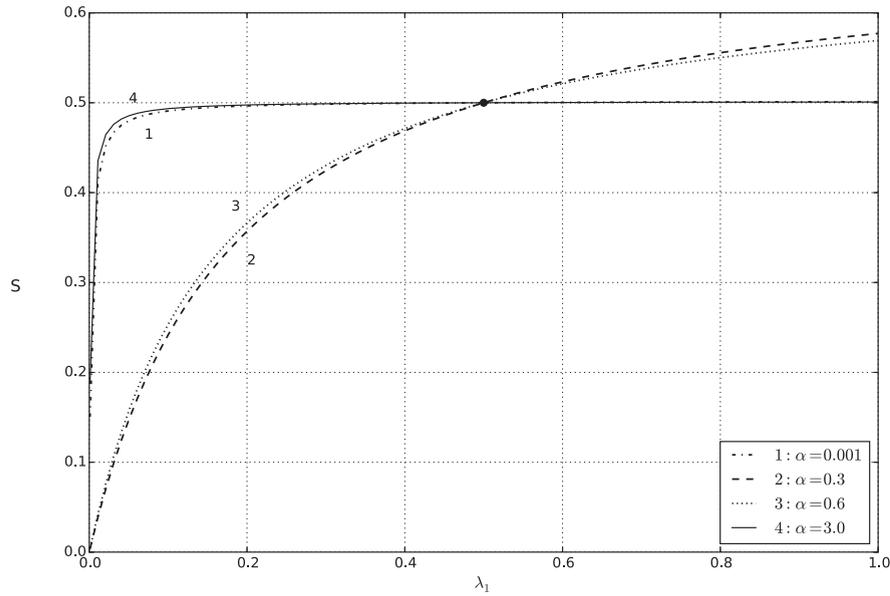


Рис. 5.2. Чувствительность стационарной концентрации S к изменению параметров λ_1 и λ_2 в режимах сильного перемешивания (кривая 1), кинетического контроля (кривые 2 и 3) и диффузионного контроля (кривая 4)

онного подпространства, которая во всех других режимах остается "темной". По мере увеличения конформационной подвижности и смещения от значения $\alpha = 1$ к значению $\alpha = 0$ (см. рисунок 5.2), цикл вначале остается в зоне кинетического контроля, и работа цикла чувствительна к изменениям λ_1 и λ_2 . Но затем, по мере распространения быстрого перемешивания на все B_r , цикл теряет чувствительность к изменению параметров λ_1 и λ_2 и восстанавливает свое симметричное состояние.

Обсудим теперь, как стационарные состояния рабочего цикла зависят от соотношения $q = \lambda_1 \setminus \lambda_2$ констант образования связи и ее разрыва в различных режимах работы цикла. На рисунках 5.3 и 5.4 показан ландшафт стационарных состояний $S(\lambda_1, \lambda_2)$ для двух значений параметра α , соответствующих медленной диффузии ($\alpha = 3$) с локализованным диффузионным фронтом и быстрой диффузии ($\alpha = 0.75$) с делокализованным фронтом.

При $q = 1$, как уже отмечалось выше, стационарное состояние симметрично во всех режимах. Это своеобразная "мертвая точка" рабочего цикла.

В режиме диффузионного контроля ($\alpha = 3$, рисунок 5.3) изменение параметров λ_1 или λ_2 не оказывает заметного влияния на стационарную концентрацию S , за исключением далеких от "мертвой точки" окрестностей $\lambda_1 \ll 1$ и $\lambda_2 \ll 1$, где значения этих параметров столь малы, что они лимитируют работу цикла даже при медленной диффузии. Всюду вне этих малых окрестностей цикл работает в диффузионно-контролируемом режиме, стационарная концентрация близка к значению $S = 0,5$ и симметричное состояние сохраняется для всех значений λ_1 или λ_2 .

При делокализации диффузионного фронта ($\alpha = 0.75$, рисунок 5.4), стационарное состояние S уже становится чувствительным и к изменениям λ_1 и λ_2 . При этом, если диффузия не слишком быстрая (значения α не слишком малы), то сохраняется чувствительность и к изменениям параметра α . Это демонстрируют зависимости

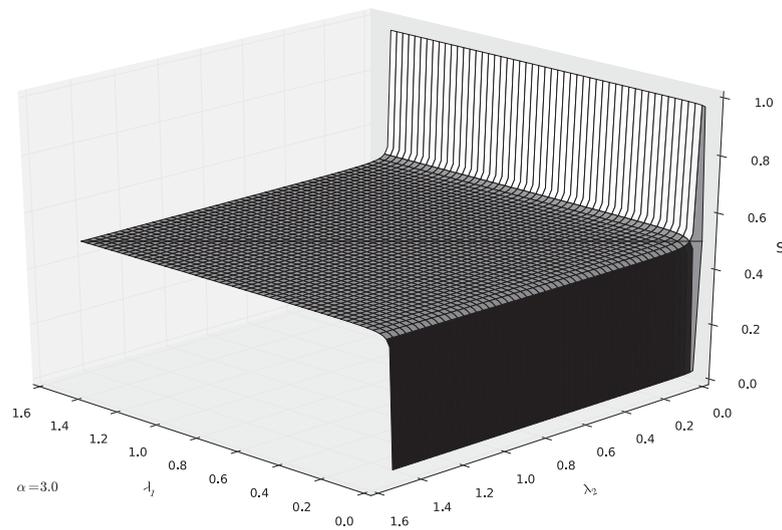


Рис. 5.3. 3-D представление ландшафта ферментативной активности при низкой конформационной подвижности: $\alpha = 3$. Значения других параметров следующие: $p = 2$, $r = 7$, $m = 5$

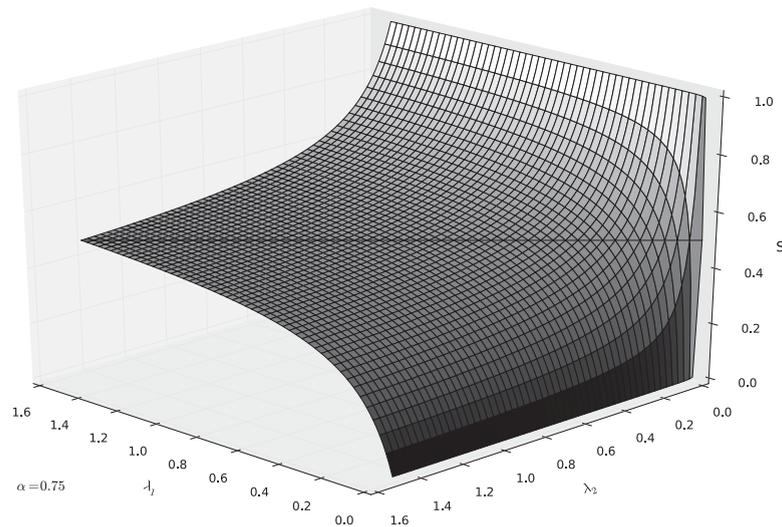


Рис. 5.4. 3-D представление ландшафта ферментативной активности при "быстрой" диффузии: $\alpha = 0.75$. Значения других параметров те же, что и для рисунка 5.3

стационарных состояний S от α при фиксированных значениях $\lambda_1 \neq \lambda_2$, показанные на рисунке 5.5.

Нетрудно заметить, что наиболее пригодная для регуляции ферментативной активности область расположена вблизи точки делокализации диффузионного фронта ($\alpha = 1$), при этом, что важно, работа цикла наиболее чувствительна к изменениям параметров в достаточно небольшой области, расположенной немногим выше точки делокализации $\alpha = 1$.

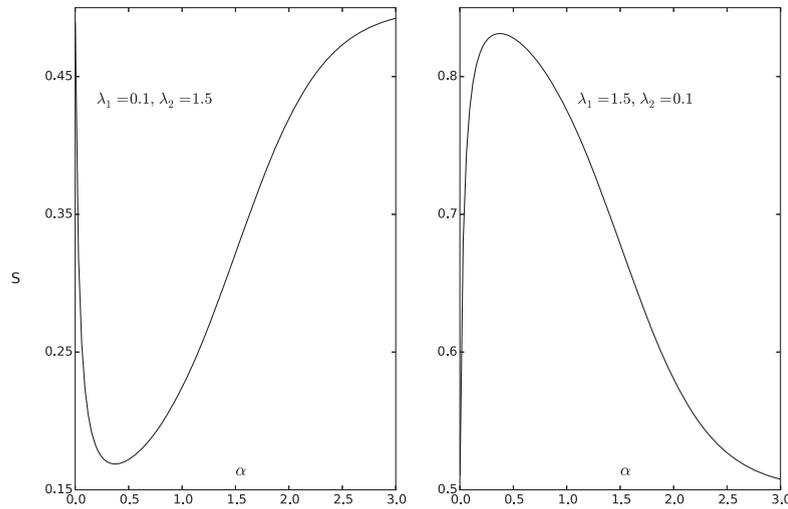


Рис. 5.5. Зависимость стационарной концентрации S от α в окрестности критической точки делокализации диффузионного фронта $\alpha = 1$ при фиксированных значениях $\lambda_1 \neq \lambda_2$

6. Заключение

Тот факт, что ферментативная активность многих белков нетривиальным образом зависит от внешних условий, известен давно. В ряде случаев ферментативная активность существенно меняется уже при небольших изменениях температуры, вязкости среды или ее ионного состава. В других случаях она, напротив, мало чувствительна к таким изменениям. У одних белков ферментативная активность монотонно растет с ростом температуры, у других, наоборот, монотонно падает, а у третьих — проходит через некоторый максимум. Действуя на конформационную подвижность белковой молекулы в одном и том же направлении, например, понижая температуру или нагружая белковую глобулу высокомолекулярными соединениями, можно получить прямо противоположные отклики — в одних случаях ферментативная активность может вырасти, а в других — резко упасть.

Столь различная реакция белков на однотипные воздействия сформировала устойчивое мнение, что регуляция ферментативной активности возможна только в узкой области значений соответствующих параметров. При этом, при одних и тех же воздействиях у разных белков ферментативная активность может меняться в прямо противоположных направлениях. Это никак не отражают относительно простые, низкоразмерные модели рабочего цикла фермента типа реакция-диффузия, подобные предложенной в [18]. У таких моделей, разнонаправленные отклики при однонаправленных воздействиях никак не следуют из свойств моделей, выглядят ”загадочно“ и могут быть оправданы только индивидуальностью тех или иных белков.

В данной статье мы показываем, что противоречивые, на первый взгляд, регуляторные свойства ферментов, на самом деле, есть следствие универсальной сложности конформационной динамики белка, обусловленной энергетическим ландшафтом белка и пространством его конформационных состояний. Ультраматрические моде-

ли, прежде всего, отражают именно эту универсальную сложность. Ультраметрическое описание рабочего цикла фермента удерживает многомасштабность конформационной динамики белка и экспоненциально большую емкость его пространства состояний уже по своей конструкции. Корни такого описания лежат в представлении многомерных сильно пересеченных ландшафтов иерархией вложенных друг в друга бассейнов локальных минимумов и аппроксимации динамики белка ультраметрическим случайным процессом. Важно подчеркнуть и то, что использованное нами ультраметрическое описание динамики белка, развитое ранее в работах [1–3; 9; 10; 13; 14], согласуется с реально наблюдаемыми особенностями конформационно контролируемой кинетики ферментативной реакции.

Ультраметрическая модель рабочего цикла фермента, анонсированная в [13] и детально рассмотренная нами в данной работе, позволяет увидеть различные пути регуляции ферментативной активности, остававшиеся скрытыми для стандартных низкоразмерных моделей типа реакция-диффузия. Важнейшей особенностью ультраметрической модели является существование в ней условий делокализации диффузионного фронта, что, заметим, характерно для случайных блужданий в многомерных пространствах. Эти условия устанавливают своеобразную границу между двумя режимами работы цикла — диффузионно-контролируемым режимом, возникающим при низкой конформационной подвижности, и кинетически-контролируемым режимом, возникающим при высокой конформационной подвижности. Существование порогового уровня конформационной подвижности, при которой фронт ультраметрической диффузии скачкообразно делокализуется, приводит к тому, что переход между режимами диффузионного контроля и кинетического контроля осуществляется в достаточно узкой области значений управляющих параметров, и именно в этой области чувствительность рабочего цикла фермента к изменению внешних условий оказывается наиболее высокой. Еще одной важной особенностью работы цикла является то, что при делокализации диффузионного фронта в работу цикла может вовлекаться все потенциально доступное пространство конформационных состояний белка и регуляторные механизмы ферментативной активности блокируются.

В целом, однонаправленное изменение внешних условий может по-разному влиять на ферментативную активность — все зависит от того, в каком режиме работает цикл. При этом важнейшее значение в регуляции ферментативной активности имеет многомасштабность конформационной динамики белка и комбинаторно большая емкость пространства его конформационных состояний. Ультраметрическая модель ферментативного рабочего цикла отражает игру этих факторов и позволяет увидеть гораздо более богатую картину регуляторных возможностей, в которой индивидуальная, на первый взгляд, реакция ферментов на однотипные изменения внешних условий на самом деле обусловлена универсальными особенностями динамики белка.

Список литературы

- [1] *Avetisov V. A., Bikulov A. K.* Protein ultrametricity and spectral diffusion in deeply frozen proteins // *Physical Reviews and Letters*, 2008, **3**, pp. 387–396.

- [2] *Avetisov V. A., Bikulov A. K., Kozyrev S. V.* Application of p -adic analysis to model of breaking of replica symmetry // *J. Phys. A: Math. Gen.*, 1999, **32**, pp. 8785–8791.
- [3] *Avetisov V. A., Bikulov A. K., Zubarev A. P.* First passage time distribution and the number of returns for ultrametric random walks // *J. Phys. A: Math Theor.*, 2009, **42**, pp. 08503–08521.
- [4] *Avetisov V. A., Nechaev S. K.* Fractal polymer globules: A new Insight on pre-biological evolution // *Geochemistry International*, 2014, **52** (13), pp. 1235–1242.
- [5] *Chowdhury D.* Modeling Stochastic Kinetics of Molecular Machines at Multiple Levels: From Molecules to Modules // *Biophysical Journal*, 2013, **104**, pp. 2331–2341.
- [6] *Chowdhury D.* Stochastic mechano-chemical kinetics of molecular motors: A multidisciplinary enterprise from a physicist’s perspective // *Physics Reports*, 2013, **529**, pp. 1–197.
- [7] *Avetisov V. A. [et al.]* Fractal globules: a new approach to artificial molecular machines // *Biophysical journal*, 2014, **107**, pp. 2361–2368.
- [8] *Steinbach P. J. [et al.]* Ligand binding to heme proteins: connections between dynamics and function // *Biochemistry*, 1991, **30**, pp. 3988–4001.
- [9] *Avetisov V. A. [et al.]* p -Adic description of characteristic relaxation in complex systems // *J. Phys. A: Math. Gen.*, 2003, **35**, pp. 4239–4246.
- [10] *Avetisov V. A. [et al.]* p -Adic models of ultrametric diffusion constrained by hierarchical energy landscapes // *J. Phys. A: Math. Gen.*, 2002, **35**, pp. 177–189.
- [11] *Ansary A. [et al.]* Protein states and proteinquakes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, **82**, pp. 5000–5003.
- [12] *Wales D.* Energy Landscapes. Applications to Clusters, Biomolecules and Glasses // Cambridge University Press, 2004, 681 pp.
- [13] *Аветисов В. А., Биколов А. Х., Зубарев А. П.* О математическом моделировании молекулярных ”наномашин“ // *Вестник Самарского государственного технического университета, сер. физ-мат науки*, 2011, **1** (22), с. 9–15.
- [14] *Аветисов В. А., Биколов А. Х., Зубарев А. П.* Ультраметрическое случайное блуждание и динамика белковых молекул // *Труды Математического института им В. А. Стеклова*, 2014, **285**, с. 3–25.
- [15] *Блюменфельд Л. А.* Проблемы биологической физики // М.: Наука, 1977, 336 с.
- [16] *Владимиров В. С., Волович И. В., Зеленов Е. И.* -Адический анализ и математическая физика // М.: Наука, 1994, 352 с.
- [17] *Ленинджер А.* Основы биохимии: в 3-х т. // М.: Мир, 1985, 367 с.
- [18] *Шайтан К. В., Рубин А. Б.* Конформационная динамика белков и простейшие молекулярные ”машины“ // *Биофизика*, 1982, **26**, с. 315–325.

PROTEIN CONFORMATIONAL DYNAMICS ROLE IN THE REGULATION OF ENZYMATIC ACTIVITY

V. A. Avetisov^{1,2}, E. V. Borshcheva¹

¹ *Department of Applied Mathematics at National Research University
“Higher School of Economics”*

² *Semenov Institute of Chemical Physics of Russian Academy of Sciences*

vladik.avetisov@gmail.com, katbr@yandex.ru

Received 29.05.2017

In this paper, we present the results of comprehensive studies of an ultrametric mathematical model for the protein operation cycle and give their physical interpretation. The results extend a familiar view on regulation of enzymatic activity. The model includes representation of a multidimensional rugged energy landscape of a protein by a hierarchy of nested basins of local minima and approximation of protein dynamics with an ultrametric random walk. In contrast to random walk in low-dimensional Euclidean space, the ultrametric model is relevant to multiscale protein conformational dynamics. The ultrametric model is also consistent with observed enzyme kinetics features. We show that the properties of regulatory of enzymes, contradictory at first glance, are a result of the universal complexity of protein conformational dynamics specified by protein energy landscape. The ultrametric model allows to see different ways to regulate enzymatic activity.