

Оценка параметров модели

Мы взяли по 30 молекул пластоцианина и цитохрома *f*, расчет повторяли 10 раз и полученные кинетические кривые усредняли. Реакционный объем выбрали кубической формы 70x70x70 нм. При этом концентрация молекул каждого типа была 145 мкМ – это на порядок больше, чем в экспериментах (Kaant, Young et al. 1996), но как показали наши расчеты, дальнейшее уменьшение концентрации не влияет на константу скорости реакции. Шаг по времени выбрали равным 100 пс, значит, при коэффициенте диффузии 10^{-10} м²/с среднее перемещение молекулы за один шаг под действием случайной силы – 2.5 Å, перемещение под действием электростатической силы было не больше этой величины (аппроксимация поверхности молекулы сферами не давала ей подойти в область большего градиента потенциала другой молекулы). Изучалась стадия образования комплекса между пластоцианином из шпината и цитохромом *f* из турнепса, процесс передачи электрона в комплексе считали быстрым по сравнению с этой стадией.

В работе (Ubbink, Ejdebeck et al. 1998) с помощью метода ЯМР были определены аминокислотные остатки на пластоцианине и цитохроме *f*, участвующие в образовании комплекса Pс-cyt *f* (таблица 1). В качестве расстояний докинга мы взяли расстояния между этими остатками и расстояние между атомами Cu и Fe (всего 8 возможных расстояний докинга).

Мы подбирали значения расстояний докинга таким образом, чтобы для них можно было подобрать значение *P*, при котором константы скорости для дикого типа Pс и мутантных при ионной силе 100 мМ были близки к экспериментальным значениям из (Kaant, Young et al. 1996). Подобранные значения расстояний приведены в таблице 1. Оказалось, что достаточно задавать только 5 расстояний докинга.

Таблица 1

Расстояния между атомами в комплексе Pc-cyt f, определенные методом ЯМР в работе (Ubbink, Ejdebeck et al. 1998) и расстояния, используемые нами в модели в качестве условия образования комплекса.

Аминокислотные остатки Pc и cyt f, расположенные рядом в комплексе Pc-cyt f	Номера и названия атомов, между которыми измеряется расстояние		R, Å расстояние в комплексе	R, Å расстояние в модели
	Pc	cyt f		
Asp42-Arg209 (D42-R209)	591 – OD2	3278 – HH2	4.1	18
Glu43-Lys187 (E43-K187)	607 – HB	2930 – HE	1.34	18
Asp44-Lys185 (D44-K185)	618 – OD2	2895 – HZ	3.56	18
Glu60-Lys58 (E60-K58)	842 – HA	912 – HZ	4.35	25
Glu59-Lys65 (E59-K65)	825 – OE2	1014 – HE	3.4	–
His87-Tyr1 (H87-Y1)	1270 – HE2	21 – HE2	2.45	–
His87-Phe4 (H87-F4)	1270 – HE2	65 – CE2	3.67	–
–	1435 – Cu	3881 – Fe	10.7–11.3	40

Значение вероятности докинга для подобранных расстояний (таблица 1), при которой полученные нами значения констант скоростей ближе всего к экспериментальным значениям – 0.01. Сравнение модельных значений констант с экспериментальными при ионной силе 100 мМ представлено в таблице 2 и на рис. 2.

Таблица 2

Значения констант скорости реакции Pc с cyt f при ионной силе 100 мМ, определенные в работе (Kaant, Young et al. 1996) для различных мутантов Pc при pH=6, и k, полученные нами на модели при расстояниях докинга, указанных в таблице 1, и вероятности докинга 0.01.

Название мутации	Изменение заряда на аминокислотных остатках	k_2 , 10^6 (Mc) ⁻¹ из эксперимента	k_c , 10^6 (Mc) ⁻¹ из модели
wt	–	185 (±20)	198 (±4)
Q88E	0 → -1	220 (±30)	345 (±7)
D42N	-1 → 0	76.5 (±1.5)	94 (±3)
E43N	-1 → 0	56.1 (±1)	80 (±3)
E43K	-1 → +1	29.3 (±0.7)	44 (±2)
E43Q/D44N	-2 → 0	26.9 (±0.6)	40 (±3)
E59K/E60Q	-2 → +1	13.8 (±0.2)	27 (±2)
E59K/E60Q/E43N	-3 → +1	5.56 (±0.01)	6.4 (±0.9)

Зависимость константы скорости реакции Pc и cyt f от ионной силы

В литературе существуют экспериментальные данные по зависимостям константы скорости реакции Pc и cyt f от ионной силы для дикого типа Pc (Crowley, Hunter et al. 2003) и мутантных (Kaant, Young et al. 1996). Экспериментальные зависимости логарифма константы скорости от корня из

ионной силы приведены на рис. 1А. Для дикого типа имеется две зависимости. Они не сильно отличаются, но зависимость из (Crowley, Hunter et al. 2003) получена для более широкого диапазона ионных сил, поэтому именно с ней мы будем сравнивать наши результаты (рис. 3). Мы получили зависимости константы скорости реакции P_c и $cut\ f$ от ионной силы для дикого и мутантных P_c при значениях параметров, подобранных ранее (рис. 1В). Качественно они совпадают с экспериментальными данными.

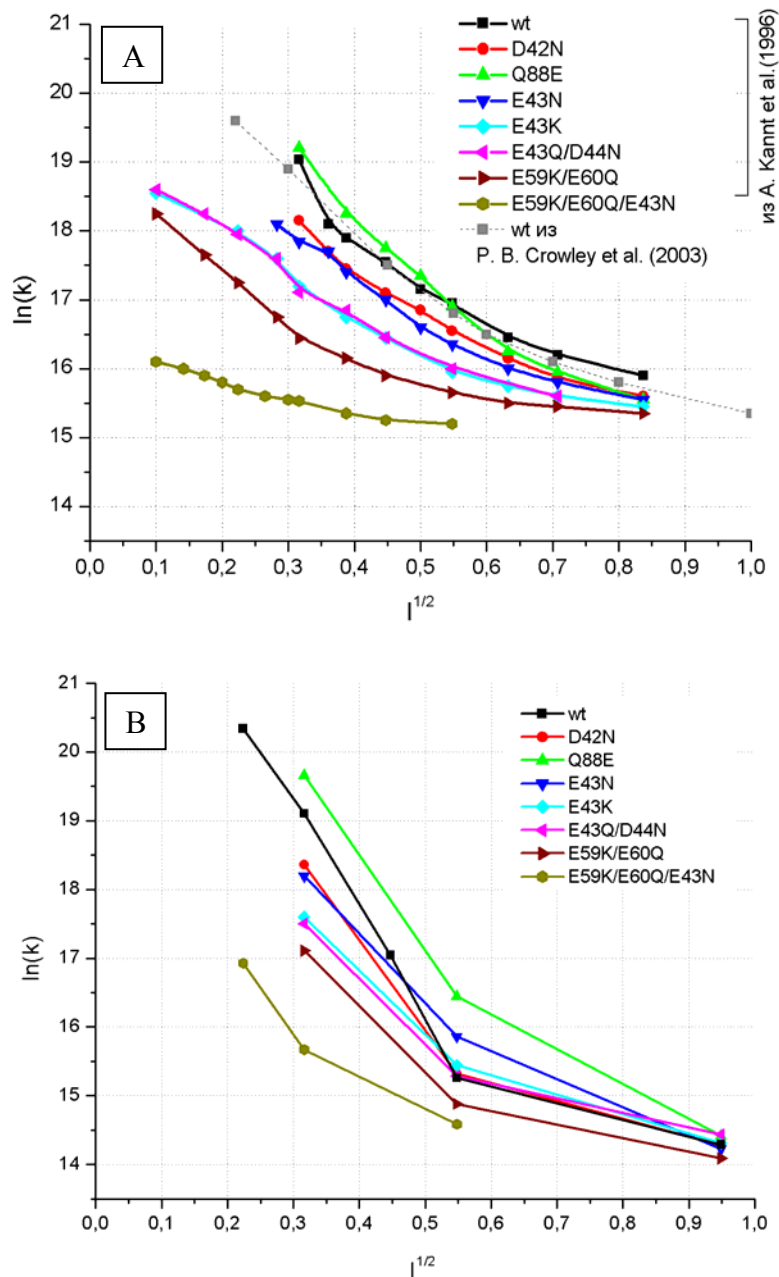


Рис. 1. Зависимость логарифма константы скорости второго порядка k от корня из ионной силы I для реакции различных мутантных и немутантного (wt) P_c с $cut\ f$: А – экспериментальные данные из литературы; В – результат нашего моделирования (расстояния докинга указаны в таблице 1, вероятность докинга – 0.01). Размерность k в $(M \cdot c)^{-1}$, I – М.

Для более наглядного сравнения полученных кривых мы построили зависимость значений логарифма констант из модели от логарифма экспериментальных констант из (Kaant, Young et al. 1996) для различных мутантных P_c при трех значениях ионной силы – 100 мМ, 300 мМ, 900 мМ (рис. 2). Также мы отдельно построили (рис. 3) модельную зависимость константы скорости реакции от ионной силы и экспериментальную из (Crowley, Hunter et al. 2003) для дикого типа P_c .

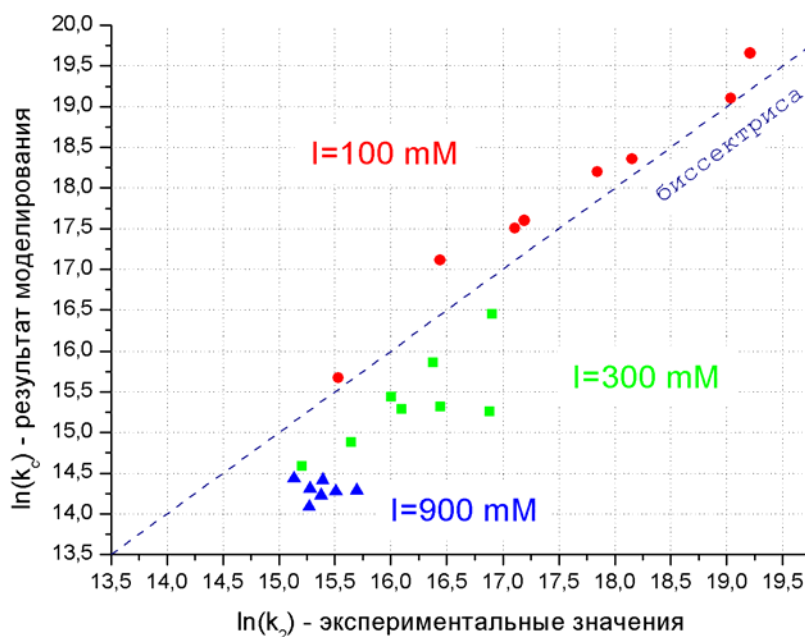


Рис. 2. Зависимость логарифма модельной константы скорости реакции для различных мутантных P_c от логарифма экспериментальной k из (Kaant, Young et al. 1996) при ионной силе 100 мМ, 300 мМ, 900 мМ; расстояния докинга указаны в таблице 1, вероятность докинга – 0.01.

Чем лучше совпадение модельных значений констант с экспериментальными, тем ближе должны лежать точки на рис. 2 к биссектрисе угла (масштаб осей одинаков). Лучше всего совпадение наблюдается при ионной силе 100 мМ. Это связано с тем, что мы подбирали значения параметров именно для этого случая.

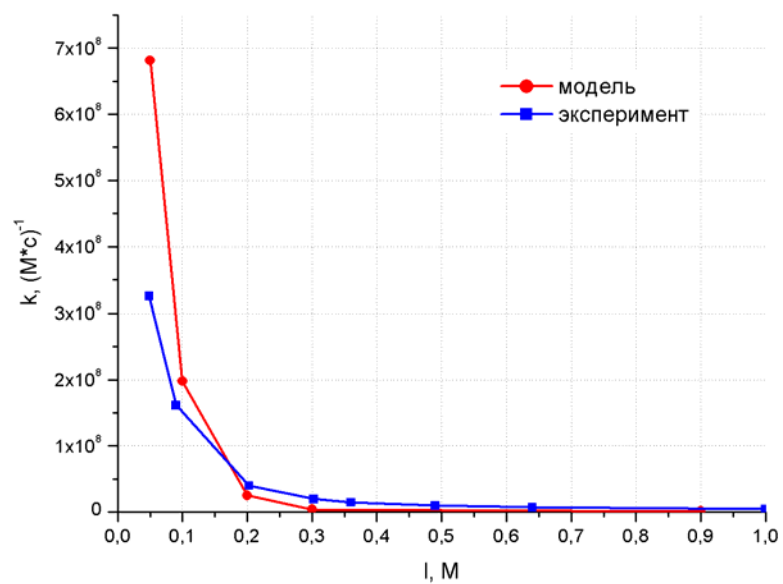


Рис. 3. Сравнение модельной зависимости константы скорости реакции от ионной силы с экспериментальной из (Crowley, Hunter et al. 2003) для дикого типа Pс; расстояния докинга указаны в таблице 1, вероятность докинга – 0.01.