

Estudio de la dinámica de macromoléculas articuladas

José García de la Torre, Pelayo Mellado Jiménez y María del Carmen López Martínez
Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias Químicas y Matemáticas, Universidad de Murcia

Recibido: 7-5-85
Aceptado: 30-10-85

Dynamics of hinged macromolecules

Abstract: We present an algorithm for the calculation of the coefficients for the translational and rotational motions of a particle composed of two rigid subunits joined at a single point of articulation. By modelling each subunit as a collection of beads, the method allows the full inclusion of all hydrodynamic interactions. The rotational diffusion coefficients are independent of the location of the origin, so any convenient point can be used for the analysis of rotational diffusion. On the other hand, the calculated translational diffusion coefficient does depend on the choice of origin. One specific application is examined in detail, that a particle made up of three identical spheres with one sphere serving as the joint.

Key-words: articulation, joint, dynamic, translational-coefficient, rotational-coefficient.

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos más importantes de la Química Física Biológica, o Bioquímica Física, es determinar la estructura de las macromoléculas biológicas, ya que es dicha estructura la que determina su función.

Muchas de las macromoléculas biológicas son esencialmente rígidas en el sentido de presentar una única conformación. Para ellas se ha desarrollado una teoría hidrodinámica bastante satisfactoria, que aparece descrita con detalle en la revisión de García de la Torre y Bloomfield ¹.

Sin embargo, existen también una serie de macromoléculas, como el ácido ribonucleico de transferencia, la miosina y las inmunoglobulinas, que poseen cierto número de fragmentos totalmente rígidos que están conectados entre sí mediante articulaciones más o menos flexibles. Estas articulaciones se comportan como regiones «blandas» de la macromolécula, y en muchos casos son susceptibles de ataque enzimático. Estas macromoléculas son las llamadas «articuladas» y resulta entonces que la función biológica de las macromoléculas de este tipo está determinada por la flexibilidad parcial de las articulaciones.

Como en el caso de macromoléculas rígidas, es posible

caracterizar la flexibilidad de las articulaciones mediante el análisis de propiedades hidrodinámicas. De hecho, durante los últimos años se han desarrollado una serie de estudios encaminados a este fin. Harvey (2, 3) trató el caso de un único grado de libertad de flexión en una macromolécula formada por dos fragmentos o subunidades. Wegener y col. (4) presentó un formalismo más ambicioso para macromoléculas compuestas por un número cualquiera de subunidades que luego fue aplicado a una macromolécula concreta Wegener (5).

El defecto de todos estos trabajos es que no tuvieron en cuenta la interacción hidrodinámica entre las dos subunidades. Resultaba necesaria, entonces, una teoría similar a la ya desarrollada para macromoléculas rígidas (García de la Torre y Bloomfield (1); García Bernal y García de la Torre (6), en la que cada una de las subunidades se modelase como un conjunto de elementos esféricos de fricción, de manera que la interacción hidrodinámica se pudiera introducir mediante los métodos usuales. Recientemente, Wegener (7) dio un paso importante en esta dirección, calculando los coeficientes de fricción y difusión para modelos de varilla articulada, formada por dos brazos cilíndricos idénticos.

Nuestro objetivo consistió en introducir la interacción hidrodinámica en el formalismo de Harvey, que nos parece más adecuado para estudiar la dinámica específica de la articulación separadamente de la dinámica global de la macromolécula. Partiendo de la teoría de macromoléculas rígidas, hemos incluido en ella, junto a los seis grados de libertad de traslación y rotación global, otros tres grados que corresponden a la flexión de las dos subunidades y a la torsión de cada una de ellas. Para ilustrar los efectos de interacción hidrodinámica (comparativamente respecto a los formalismos que no la consideran), hemos elaborado con detalle el problema sencillo de un modelo de tres esferas, en el que una actúa como articulación y las otras dos representan a las subunidades móviles.

TEORÍA

En la figura 1 se encuentra el modelo general de macromolécula articulada compuesta por dos subunidades. Cada una de ellas consta de cierto número de elementos esféricos. Las subunidades pueden ser distintas, y no hay ninguna restricción acerca de su simetría. Asignamos ejes (vectores unitarios) \hat{i}_1 e \hat{i}_2 a las subunidades, y consideramos un sistema cartesiano de referencia fijo en la partícula de tal manera que el plano xy coincide con el plano (\hat{i}_1, \hat{i}_2).

Para una partícula con dos subunidades, el número de grados de libertad es nueve (seis de traslación y rotación para cada subunidad de la partícula menos tres grados para impedir la traslación relativa de una subunidad respecto a la otra). El vector generalizado de velocidades tiene enton-

ces nueve componentes, que pueden elegirse de muy diversas maneras con la única condición de que sean mutuamente independientes. Precisamente, es en esta elección donde radica la diferencia entre nuestra teoría y la de Wegener. En nuestro tratamiento, las tres primeras componentes son las traslaciones de cierto punto de la macromolécula (la articulación, O, o cualquier otro) respecto a un sistema de referencia fijo en el espacio. Otras tres corresponden a las rotaciones «rígidas» de la macromolécula, esto es, sin variación en los ángulos α, β_1 y β_2 . La séptima es la flexión, con una velocidad angular $\dot{\alpha} = d\alpha/dt$. Las dos últimas componentes son las velocidades angulares de torsión, β_1 y β_2 . A cada una de estas velocidades corresponde una fuerza o momento. Con las nueve velocidades formamos un vector generalizado de velocidades \underline{u}_0 (referido a O), y análogamente construimos un vector generalizado de fuerzas, \underline{F}_0 , que contiene las fuerzas y momentos. En condiciones de bajo número de Reynolds, se debe cumplir la ecuación generalizada de Stokes (8)

$$\underline{F}_0 = \mathbf{R}_0 \cdot \underline{u}_0$$

donde \mathbf{R}_0 es el tensor de resistencia de dimensión 9×9 , que puede descomponerse en cajas 3×3 en la forma

$$\mathbf{R}_0 = \begin{vmatrix} \underline{\underline{r}}_{11} & \underline{\underline{r}}_{0,1r}^T & \underline{\underline{r}}_{0,1i}^T \\ \underline{\underline{r}}_{0,1r} & \underline{\underline{r}}_{0,rr} & \underline{\underline{r}}_{0,ri}^T \\ \underline{\underline{r}}_{0,1i} & \underline{\underline{r}}_{0,ri} & \underline{\underline{r}}_{0,ii} \end{vmatrix}$$

Además de O, que indica dependencia del Punto de refe-

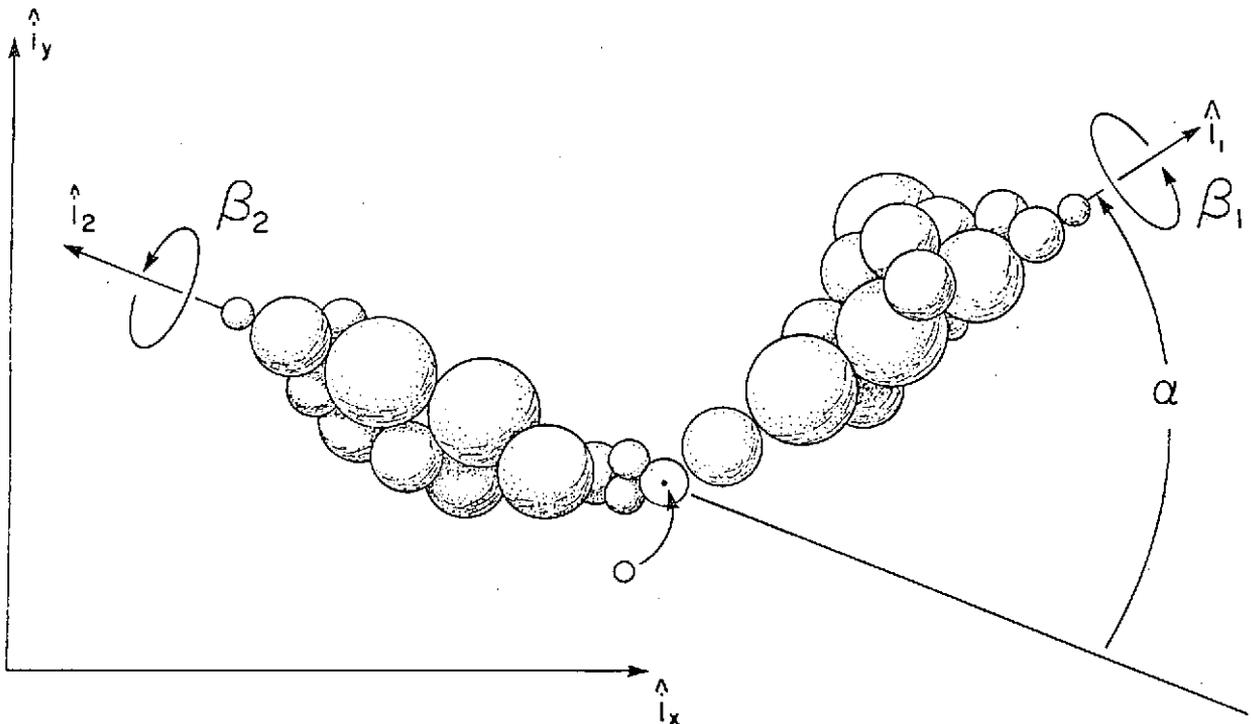


FIGURA 1. Modelo general para una macromolécula articulada compuesta por dos subunidades, con flexión y torsión.



rencia, utilizamos un doble subíndice para identificar las coordenadas asociadas a cada tensor 3×3 : t para traslación, r para rotación e i para las tres coordenadas internas, flexión y torsiones.

Mientras que R_0 caracteriza la dinámica determinada de fricción, la dinámica Browniana de difusión está determinada por un tensor 9×9 de difusión, D_0 , que puede calcularse mediante la fórmula generalizada de Einstein (8)

$$D_0 = k_B T R_0^{-1}$$

D_0 puede también fragmentarse en cajas 3×3 . A partir de D_{0}^{tt} se puede obtener el coeficiente de difusión traslacional. Por otra parte, de las cajas rr , ri e ii se puede obtener toda la información necesaria para estudiar cualquier propiedad relacionada con la rotación de la macromolécula articulada, como la relajación dieléctrica, la caída de birrefringencia, la anisotropía de fluorescencia, etc.

Según la anterior fórmula, el estudio de la dinámica de difusión únicamente requiere el conocimiento de los subtensores de R_0 . De éstos, Ξ_{tt} , Ξ_{tr} y Ξ_{rr} son los mismos que para una estructura rígida (α fijo) y pueden evaluarse me-

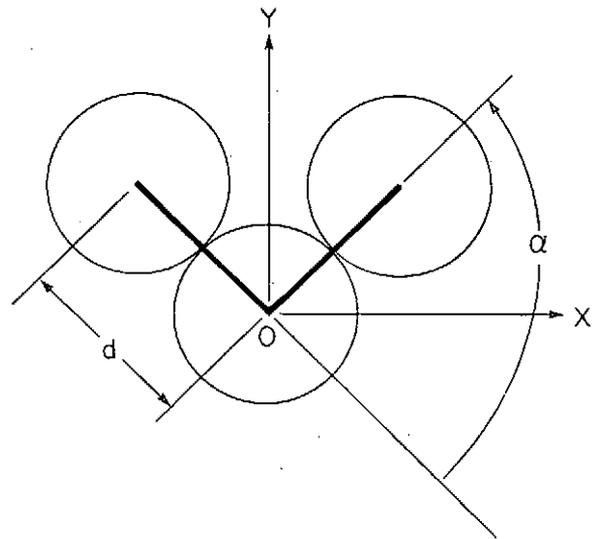


FIGURA 2. Modelo articulado formado por tres esferas.

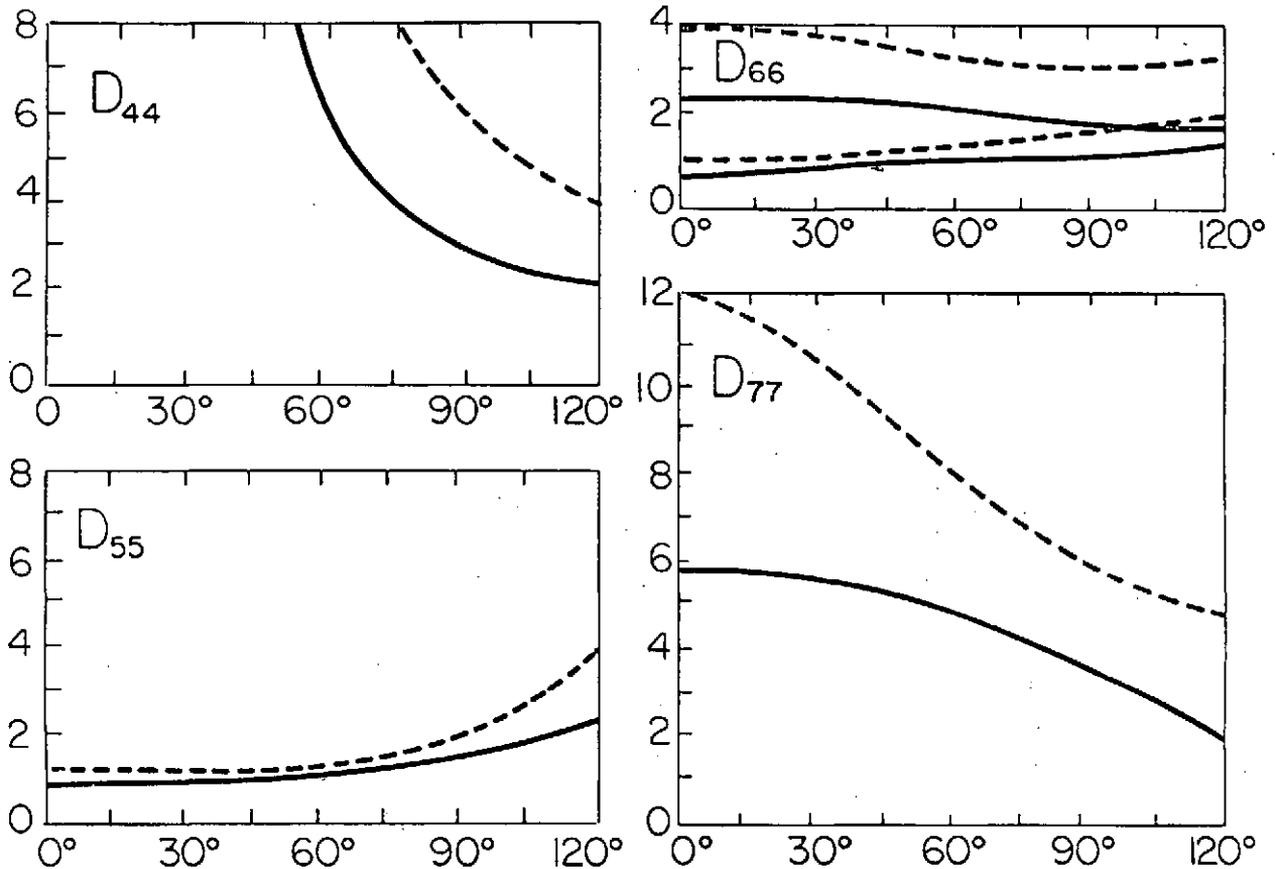


FIGURA 3. Coeficientes de difusión rotacional diagonales del modelo de tres esferas, en función del ángulo α .

diante las fórmulas de García Bernal y García de la Torre (6) que incluyen completamente la interacción hidrodinámica. Hemos obtenido expresiones para los tres restantes siguiendo procedimientos análogos a los utilizados por los mencionados autores para los tres restantes subtensores de R_0 . Estas expresiones son bastante aparatosas en cuanto a su aspecto, por lo que no las reproducimos aquí, pero no presentan grandes dificultades en lo que a su cálculo en ordenador se refiere.

Se comprende ahora una de las grandes ventajas de nuestro tratamiento frente al de Wegener. Al conservar las seis coordenadas de la partícula rígida, podemos aprovechar resultados conocidos, y mediante una inmediata generalización de éstos, podemos fácilmente obtener los restantes componentes del tensor de resistencia.

La segunda ventaja de nuestro tratamiento procede de nuestro uso de un sistema de coordenadas fijo en la molécula (x, y, z) que puede ser elegido como mejor convenga (mientras que Wegener refiere todos los cálculos al sistema de coordenadas del laboratorio). Por ejemplo, en el estudio de magnitudes relacionadas con el momento dipolar de la macromolécula, podemos tomar el eje y de manera que el momento dipolar esté sobre él para cualquier valor del ángulo entre las subunidades. Como puede comprenderse, esto supone una notable simplificación en los cálculos.

Aplicación a un modelo de tres esferas

En este sencillo modelo de partícula articulada, hay una esfera en la articulación, flanqueada por dos esferas, que son las subunidades que se pueden mover una respecto a la otra (figura 2).

Hemos calculado el coeficiente de difusión traslacional.

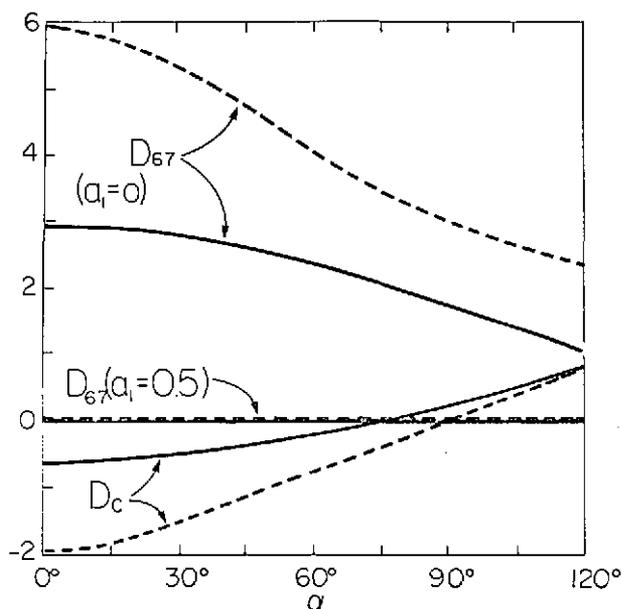


FIGURA 4. Lo mismo que en la figura 3 para los coeficientes no diagonales.

definido como la traza del tensor $D_{0, TT}$, con y sin interacción hidrodinámica, resultando que el valor que incluye la interacción es 1,27 veces mayor. Si, en vez de a 0, los cálculos se refieren al centro de masas de la partícula, el factor es 1,88. Estos resultados indican claramente la considerable influencia (27% ó 88%) de los efectos de interacción.

También hemos calculado diversos coeficientes de difusión rotacional instantáneos en función de α (el coeficiente traslacional al que antes nos referíamos es un promedio sobre α). Los resultados aparecen en las figuras 3 y 4. Debemos advertir que en estos cálculos no hemos incluido las coordenadas octava y novena (torsiones) para simplificar los resultados. Esto no tiene ningún efecto sobre las siete coordenadas restantes ya que los términos que aplan unas con las otras son nulos.

En las figuras 3 y 4 se indican con línea continua los resultados con interacción hidrodinámica, y con línea discontinua los obtenidos sin ella. El caso indicado como $a_1=0,5$ corresponde a colocar los ejes x e y como se indica en la figura 2, mientras que en caso $a_1=0$ el eje y se situó a lo largo de la línea de centros de la esfera central y una terminal. Cuando no se indica el valor de a_1 es porque los resultados no dependen de la situación de los ejes. Los valores numéricos presentados en las figuras 3 y 4 están en unidades de $k_B T (6\pi\eta\delta^3)^{-1}$, donde η es la viscosidad del disolvente y δ es la distancia entre los centros de esferas contiguas. También hemos representado los valores del coeficiente de correlación D_c definido por Wegener como

$$D_c = D_{66} + (2a_1 - 1) D_{67} - a_1 (1 - a_1) D_{77}$$

Se aprecia que los coeficientes de difusión rotacional disminuyen en magnitud desde un 10% hasta un 60% cuando se introduce la interacción hidrodinámica. Tenemos así otra comprobación de la apreciable magnitud de los efectos de interacción.

Wegener estudió un modelo de varilla articulada con relación axial 20:1, encontrando que la introducción de interacción hidrodinámica produce un aumento en la mayoría de los coeficientes de difusión rotacional, en lugar de una disminución como ocurre para nuestro modelo de tres esferas. El hecho de que los efectos de interacción dependan fuertemente, en magnitud y signo, de la relación axial de las subunidades (20:1 en el caso de Wegener y 3:1 en el nuestro), indica que no es válido extrapolar los resultados de cálculos de un modelo a otros modelos, de manera que se requieren cálculos específicos para cualquier macromolécula que se trate mediante este formalismo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Stephen C. Harvey (Departament of Biochemistry, University of Alabama, Estados Unidos) la colaboración prestada en este trabajo, que fue financiado mediante una Ayuda del Comité Mixto de Investigación Diputación-Universidad de Murcia, y una Subvención de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica al Proyecto 555/81.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 GARCÍA DE LA TORRE, J. y BLOOMFIELD, V. A. *Quarterly Reviews of Biophysics*, *14*, 81 (1981).
- 2 HARVEY, S. C. *Biopolymers*, *18*, 1981 (1979).
- 3 HARVEY, S. C. y CHEUNG, H. C. *Biopolymers*, *19*, 913 (1980).
- 4 WEGENER, W. A. J. *Chem. Phys.*, *73*, 4086 (1980).
- 5 WEGENER, W. A. *Biopolymers*, *21*, 1049 (1982).
- 6 GARCÍA BERNAL, J. M. y GARCÍA DE LA TORRE, J. *Biopolymers*, *19*, 751 (1980).
- 7 WEGENER, W. A. J. *Chem. Phys.*, *76*, 6425 (1982).
- 8 BRENNER, H. J. *Colloid Interface Sci.*, *23*, 407 (1967).

