

Научная статья

УДК 577.32

DOI: <https://doi.org/10.18721/JPM.15405>

ОЦЕНКА ТРУДНОИЗМЕРЯЕМЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТЕРМОДИССОЦИИИ БИОМОЛЕКУЛ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ НЕПРЯМЫХ ИЗМЕРЕНИЙ

А. П. Головицкий ✉, Ю. А. Ключковская

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

✉ alexandergolovitski@yahoo.com

Аннотация. Работа посвящена нахождению минимума экспериментальной информации о биомолекулах, необходимого для количественной оценки значений таких их физических параметров, которые по каким-либо причинам невозможно измерить непосредственно, но которые связаны известными математическими соотношениями с величинами, поддающимися измерению. Для случая, когда термодиссоциация сложной молекулы возможна по нескольким каналам вследствие разрыва различных внутримолекулярных связей, получено оригинальное аналитическое выражение, связывающее степень ассоциации биомолекул с температурой окружающей среды и с физическими параметрами исследуемой молекулы. В качестве примера показана возможность оценки с удовлетворительной точностью некоторых физических параметров термодиссоциации димера протеазы SARS-CoV-2, а также температурной зависимости степени ассоциации этого димера.

Ключевые слова: термическая диссоциация, биомолекула, степень ассоциации, трудноизмеряемый параметр, димер протеазы SARS-CoV-2

Для цитирования: Головицкий А. П., Ключковская Ю. А. Оценка трудноизмеряемых физических параметров термодиссоциации биомолекул по результатам непрямых измерений // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2022. Т. 15. № 4. С. 69–80. DOI: <https://doi.org/10.18721/JPM.15405>

Статья открытого доступа, распространяемая по лицензии CC BY-NC 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

Original article

DOI: <https://doi.org/10.18721/JPM.15405>

THE ESTIMATION OF HARD-TO-MEASURE PHYSICAL PARAMETERS OF THERMAL DISSOCIATION OF BIOMOLECULES FROM RESULTS OF INDIRECT MEASUREMENTS

A. P. Golovitskii ✉, J. A. Klyuchkovskaya

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

✉ alexandergolovitski@yahoo.com

Abstract. The present paper is devoted to finding the necessary minimum of experimental information on biomolecules for quantitative evaluation of such physical parameters which cannot be directly measured for some reason, but are connected by known mathematical relations to any measureable quantities. For the case when thermal dissociation of a complex molecule is possible through several channels due to breaking of various intramolecular bonds, an original analytic expression relating the association degree of biomolecules to its physical parameters and the environment temperature has been deduced. It was exemplified the possibility to evaluate (with satisfactory accuracy) some physical parameters of thermal dissociation protease SARS-CoV-2 dimer and the temperature dependence of the association degree of this dimer as well.

Keywords: thermal dissociation, biomolecule, association degree, hard-to-measure parameter, protease SARS-CoV-2 dimer

For citation: Golovitskii A. P., Klyuchkovskaya J. A., The estimation of hard-to-measure physical parameters of thermal dissociation of biomolecules from results of indirect measurements, St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics. 15 (4) (2022) 69–80. DOI: <https://doi.org/10.18721/JPM.15405>

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

Введение

Одним из важных факторов, влияющих на существование и распространение живых организмов на Земле, является температура. Для сред пребывания биомолекул живых организмов характерна изменчивость температуры в пределах так называемой витальной температурной зоны. У птиц и млекопитающих изменения внутренней температуры обычно лежат в пределах 25 – 42°C (298 – 315 K); у других животных, а также у растений они могут находиться в пределах температуры окружающей среды от –50 до +50°C (223 – 323 K).

Энергии внутримолекулярных связей в биомолекулах сравнительно невелики и составляют несколько десятых долей электронвольт [1, 2]. При отмеченных изменениях температуры T может изменяться состав биомолекул организма вследствие их термической диссоциации. Степень диссоциации, концентрации продуктов диссоциации, а также скорости биохимических реакций будут меняться с изменениями температуры.

Ввиду многообразия как самих биологических реакций, так и состава реагентов и продуктов, проведение полного цикла экспериментальных исследований по определению названных величин во всем витальном диапазоне температур представляется весьма затруднительным и времязатратным. С другой стороны, чисто теоретическая оценка *ab initio* внутренних параметров биосреды и их зависимостей от температуры также представляется затруднительной, ввиду очевидной сложности поставленной задачи и неполноты информации о необходимых данных.

Цель данной работы – обосновать выбор метода количественной оценки таких параметров биологической среды и их температурных зависимостей, величины которых крайне затруднительно или невозможно измерить непосредственно, но возможно определить на основании анализа некоторого (априори неизвестного) минимума технически доступной экспериментальной информации.

Иными словами, необходимо ответить на вопрос, какие параметры биосреды можно определить (рассчитать, исходя из определенной модели), обладая информацией о других ее параметрах – таких, для которых имеется возможность их прямого измерения.

Термической диссоциации и одновременно протекающему обратному процессу – рекомбинации фрагментов квазидвухатомной молекулы (димера) P соответствует реакция



где M – третье тело, необходимое для хода реакции; P_1, P_2 – макрофрагменты, образовавшиеся при диссоциации молекулы P . Отношение констант скоростей прямой (K_d) и обратной (K_r) реакций (1), т. е. диссоциации димера на мономеры и трехтельной рекомбинации мономеров обратно в димер, – называется константой равновесия K_c :

$$K_c = K_d / K_r, \quad (2)$$

Численно K_c определяется через концентрации реагентов и продуктов:

$$K_c = C_{P_1}^2 / C_P, \quad (3)$$

так как для реакции (1) $C_{P_1} = C_{P_2}$.

Сведения о константах скорости рассматриваемых реакций

Коэффициент скорости рекомбинации. Расчеты М. Боденштейна, Р. Толмена, Д. Штайнера и др. [3] продемонстрировали, что описать количественно реакцию трехтельной рекомбинации типа $P_1 + P_2 + M \rightarrow P + M$ можно лишь в предположении, что тройное столкновение протекает в две фазы: первоначально формируется сближенная пара – дублет, а затем, в результате сближения с третьей частицей, – триплет. Бимолекулярный механизм столкновения частиц $P_1 + P_2$ не соответствует всему процессу данной реакции, так как для окончания процесса нужна релаксация энергии, выделяющейся при столкновении $P_1 + P_2$. Процесс релаксации может произойти при соударении квазимолекулы с некоторой третьей частицей M , отводящей излишнюю энергию и приводящей молекулу P к стабильному состоянию [4]. Исходя из описанного механизма, получен ряд довольно сложных аналитических выражений для K_r (формулы Толмена, Касселя и др. [3, 5 – 7]). К сожалению, величины параметров, входящих в эти выражения, либо известны «плохо» (молекулярные массы биомолекул, диаметры фрагментов), либо известны лишь качественно из общих соображений (потенциальная энергия квазимолекулы на расстоянии r или расстояние между центром тяжести дублета и третьей частицей), либо вовсе неизвестны (как параметр δ в формуле Толмена). Это препятствует применению полученных теоретических формул для практических расчетов $K_r(T)$.

Из весьма немногочисленных результатов экспериментов следует, что

$$K_r(T) \approx BT^{-b},$$

где B – константа, а величина параметра b по данным [8] для разных молекул меняется в пределах $0,4 \leq b < 3,0$, но для большинства случаев (данные имеются только для не очень больших молекул) принимают значение $b \approx 1,5$ [9]. Значение константы B обычно определяют опытным путем.

Коэффициент скорости диссоциации. По определению,

$$K_d(T) = \left(\frac{8kT}{\pi\mu} \right)^{1/2} (kT)^{-3/2} \int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW, \quad (4)$$

где W , эВ, – кинетическая энергия относительного движения столкновительных партнеров; W_d , эВ, – энергия диссоциации; T , К, – температура; k , эВ/К, – константа Больцмана; μ , г, – приведенная масса; σ_d , см², – сечение столкновительной диссоциации. Распределение молекул по энергиям полагается максвелловым.

Теоретические выражения для сечений столкновительной диссоциации $\sigma_d(W)$ имеются только для двухатомных молекул [10]; для сложных многоатомных молекул данные отсутствуют, а для оценок предлагаются различные формы сечений, полученные из «разумных соображений».

Для выяснения влияния формы сечения диссоциации $\sigma_d(W)$ на зависимость $K_d(T)$ считаем этот коэффициент по формуле (4) для некоторых встречающихся в литературе гипотетических случаев форм $\sigma_d(W)$; при этом учтем, что для биомолекул в витальном диапазоне имеет место неравенство $W_d \gg kT$.

Случай 1. Для часто используемой модели «твердых шаров» сечение диссоциации имеет вид (см. кривую 1 на рис. 1):

$$\sigma_d(W) = \begin{cases} \sigma_0 & \text{при } W \geq W_d; \\ 0 & \text{при } W < W_d. \end{cases}$$

Тогда интеграл в формуле (4) принимает вид:

$$\int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW = \sigma_0 kT (W_d + kT) \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right) \approx \sigma_0 kT W_d \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right), \quad (5)$$

$$K_d(T) \approx 2\sigma_0 \sqrt{\frac{2}{\pi\mu}} \frac{W_d}{\sqrt{kT}} \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right), \quad (6)$$

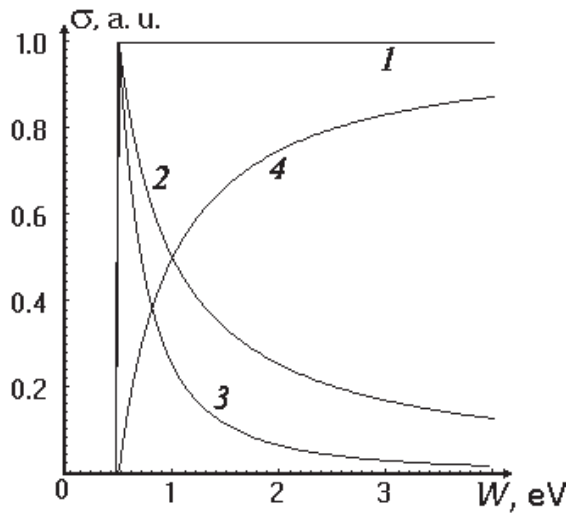


Рис. 1. Модельные энергетические зависимости сечений диссоциации молекул при столкновениях с другими молекулами при заданном значении $W_d = 0,5$ эВ. Номера кривых соответствуют нумерации рассмотренных случаев (см. пояснения в тексте)

Случай 2. Для модели, в которой

$$\sigma_d(W) = \begin{cases} \sigma_0 (W_d/W) & \text{при } W \geq W_d; \\ 0 & \text{при } W < W_d \end{cases}$$

(см. кривую 2 на рис. 1), получится, что

$$\int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW = \sigma_0 kT W_d \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right),$$

а это совпадает с уравнением (5) и в итоге даст тот же результат для $K_d(T)$, который дает выражение (6).

Случай 3. Для модели, в которой

$$\sigma_d(W) = \begin{cases} \sigma_0 (W_d/W)^2 & \text{при } W \geq W_d; \\ 0 & \text{при } W < W_d \end{cases}$$

(см. кривую 3 на рис. 1), будет выполняться равенство

$$\int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW = \sigma_0 W_d^2 \cdot \gamma\left(0, \frac{W_d}{kT}\right),$$

где $\gamma(x, y)$ – неполная гамма-функция.

При $W_d \gg kT$ можно ограничиться главным членом ее асимптотического разложения:

$$\gamma\left(0, \frac{W_d}{kT}\right) \approx \frac{kT}{W_d} \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right),$$

а тогда

$$\int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW \approx \sigma_0 kT W_d \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right).$$

Сравнивая это приближенное равенство с уравнением (5), вновь получаем такой же результат для $K_d(T)$, что и выражение (6).

Случай 4. Для модели [11] справедливо следующее (см. кривую 4 на рис. 1):

$$\sigma_d(W) = \begin{cases} \sigma_0 (1 - W_d) & \text{при } W \geq W_d; \\ 0 & \text{при } W < W_d \end{cases}$$

$$\int_{W_d}^{\infty} \sigma_d(W) W \exp\left(-\frac{W}{kT}\right) dW \approx \sigma_0 (kT)^2 \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right)$$

и соответственно

$$K_d(T) \approx 2\sigma_0 \sqrt{\frac{2}{\pi\mu}} \sqrt{kT} \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right). \quad (7)$$

Итак, для первых трех модельных случаев с существенно различными формами энергетической зависимости сечений диссоциации (рис. 2) получены фактически тождественные результаты для $K_d(T)$. В случае 4 имеется отличие от первых трех в показателе степени

kT в предэкспоненциальном множителе. Как показано ниже, такая разница практически не скажется на величине невязки между экспериментальной и аналитической зависимостями $K_d(T)$ в витальном диапазоне температур. Однако отсутствие информации о конкретной величине σ_0 для биомолекул воспрепятствует практическому использованию выражений (6) и (7).

К сожалению, нет надежных данных ни о форме $\sigma_d(W)$, ни и о величине σ_0 , поэтому при оценках формы $\sigma_d(W)$ обычно ограничиваются использованием простых разумных предположений (см., например, работу [9]).

Константа равновесия для термической диссоциации

Из вышеприведенного анализа теоретических и экспериментальных работ вытекает, что зависимость $K_c = K_d / K_r$ можно представить в виде простого выражения:

$$K_c(T) \approx \frac{A}{T^m} \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right), \quad (8)$$

где A – константа, зависящая от вида молекул; m – параметр, значения которого лежат в пределах от $-0,5$ до $2,0$ (по разным данным).

Правомерность использования выражения (8) подтверждается получением хороших аппроксимаций опубликованных в литературе экспериментальных данных о K_c , в том числе и для белковых молекул. Например, нам удалось аппроксимировать данные из работы [1] следующим выражением типа (8):

$$K_c \approx \frac{7,23 \cdot 10^8}{\sqrt{T}} \exp\left(-\frac{6342,8}{T}\right) \text{ мкмоль/л} \quad (9)$$

с погрешностью $\rho = 3,3 \%$ (см. рис. 2,а).

Для получения выражения (9) (а также (10) и данных таблицы, представленной ниже) мы использовали квазилинейную показательно-экспоненциальную аппроксимацию с итерированием веса [12].

Удалось также аппроксимировать данные о константе из статьи [2] следующим выражением:

$$K_c \approx \frac{6,8 \cdot 10^5}{\sqrt{T}} \exp\left(-\frac{6851}{T}\right) \text{ нмоль/л} \quad (10)$$

(см. рис. 2,б) с погрешностью $\rho \approx 2,5 \%$. В работе [2] дополнительно сообщалось, что величина

$$W_d \approx 0,580 \pm 0,026 \text{ эВ};$$

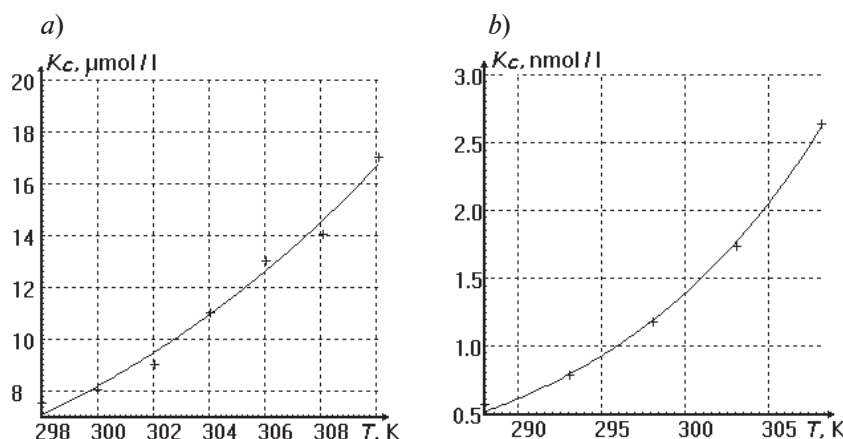


Рис. 2. Наши аппроксимации экспериментальных температурных зависимостей [1, 2] констант равновесия двух реакций термической диссоциации ассоциированных молекул: а – димер-мономер протеазы SARS-CoV-2 [1], б – дикий тип мутированного hIL15 и его рецептор hIL15Rα [2] в водных растворах

из аппроксимации (10) получается, что $W_d \approx 0,591$ эВ (расхождение $\rho = 1,9$ %). Иными словами, когда величина W_d известна априори, возникает возможность контроля точности аппроксимации.

Таблица

Результаты наших аппроксимаций экспериментальных данных о K_c из работ [1, 2] выражением (8)

m	Значения, полученные по исходным данным статей [1] и [2]					
	ρ , %		W_d / k , К		A	
	[1]	[2]	[1]	[2]	[1]	[2]
2,0	3,330	2,500	-5879	-6392	$2,96 \cdot 10^4$	28,5
1,5	3,321	2,500	-6034	-6545	$8,59 \cdot 10^5$	817
1,0	3,319	2,501	-6188	-6697	$2,49 \cdot 10^7$	$2,35 \cdot 10^4$
0,5	3,318	2,502	-6343	-6851	$7,23 \cdot 10^8$	$6,80 \cdot 10^5$
0,0	3,316	2,503	-6498	-7003	$2,10 \cdot 10^{10}$	$1,96 \cdot 10^7$
-0,5	3,314	2,504	-6653	-7156	$6,09 \cdot 10^{11}$	$5,64 \cdot 10^8$
-1,0	3,313	2,505	-6808	-7309	$1,77 \cdot 10^{13}$	$1,63 \cdot 10^{10}$

Примечания. 1. Использованы данные авторов статей L. Silvestrini et al. [1] и S. Sakamoto et al. [2]. 2. Было принято изменение T в пределах 300 ± 15 К.

Попробуем уточнить величину m в выражении (8), воспользовавшись результатами работ [1, 2], т. е. проведем аппроксимации экспериментальных данных этих работ выражением (8) при разных m (от -1 до $+2$) и при изменении T в пределах 300 ± 15 К. Искомыми подбираемыми параметрами являлись A и W_d . Результаты сведены в таблицу.

Анализ результатов проведенных аппроксимаций показывает следующее:

погрешность аппроксимации ρ фактически не зависит от m при изменении m в пределах от -1 до $+2$;

полученные величины W_d меняются с изменением m незначительно – не более, чем на ± 10 %.

Этот анализ позволяет заключить, что при погрешностях измерений $K_c(T)$ более нескольких десятых долей процента, извлечение информации о величине m из экспериментальных данных, снятых в пределах витального диапазона изменения T , оказывается невозможным, а также что вариации величины m оказывают лишь пренебрежимо малое воздействие на воспроизводимость формулой (8) экспериментальных данных о константе равновесия реакции (1). Из последнего следует, что в выражении (8) можно для простоты положить $m = 0$; это не сделает погрешность такой аппроксимации хуже в пределах изменений температуры, характерных для биомолекул.

Итак, если указанные погрешности эксперимента приемлемы для исследователя, то допустимо использовать следующую аппроксимацию константы равновесия:

$$K_c(T) \approx A \exp\left(-\frac{W_d}{kT}\right). \quad (11)$$

К сожалению, для биомолекул не представляется возможным провести теоретический расчет постоянной A с приемлемой точностью (не хуже $10 - 15$ %), ибо, как отмечалось выше, недостает информации о многих параметрах, фигурирующих в имеющихся теориях.

Степени ассоциации и диссоциации

Пусть термическая диссоциация биомолекулы Р может одновременно протекать по нескольким каналам распада типа



Для каждой i -й реакции будет своя константа равновесия K_{ci} , численно равная

$$K_{ci} = C_{P_{i1}}^2 / C_P, \quad (13)$$

так как $C_{P_{i1}} = C_{P_{i2}}$. Здесь C_P – концентрация молекул Р, сохранившихся при протекании всех реакций типа (12).

Определим величину β как отношение концентрации C_P всех нераспавшихся молекул Р к концентрации C_{P_0} потенциально возможных молекул Р (например, при низких температурах, когда термодиссоциация пренебрежимо мала, либо как количество молекул «сухого» вещества на единицу объема раствора), т. е. как

$$\beta = C_P / C_{P_0}. \quad (14)$$

Будем полагать раствор молекул Р слабым, таким, что C_{P_0} много меньше концентрации молекул растворителя и наличие растворенного вещества не влияет на объем раствора. Для фиксированного объема такого раствора будет выполняться равенство

$$C_P + \sum_i C_{P_{i1}} = C_{P_0}. \quad (15)$$

Тогда, учитывая, что $C_{P_{i1}} = \sqrt{C_P K_{ci}}$, согласно формуле (13), получим следующее выражение:

$$\beta = \left(1 + \sum_i \sqrt{K_{ci}} / \sqrt{C_P} \right)^{-1}. \quad (16)$$

Выражение (15) преобразуется в квадратное уравнение относительно $\sqrt{C_P}$:

$$C_P + \sqrt{C_P} \sum_i \sqrt{K_{ci}} - C_{P_0} = 0, \quad (17)$$

Его физически разумное решение имеет вид

$$\sqrt{C_P} = \sqrt{\frac{1}{4} \left(\sum_i \sqrt{K_{ci}} \right)^2 + C_{P_0}} - \frac{1}{2} \sum_i \sqrt{K_{ci}},$$

откуда вытекает, что

$$\frac{\sum_i \sqrt{K_{ci}}}{\sqrt{C_P}} = \frac{2}{\sqrt{1 + 4C_{P_0} \left(\sum_i \sqrt{K_{ci}} \right)^{-2}} - 1}.$$

Подставив это равенство в выражение (16), получим формулу

$$\beta = \left[1 + \frac{2}{\sqrt{1 + 4C_{P_0} \left(\sum_i \sqrt{K_{ci}} \right)^{-2}} - 1} \right]^{-1}. \quad (18)$$

Величины K_{ci} можно вычислять по формуле для аппроксимации константы равновесия (11).

Переменная $\beta(T)$ представляет собой степень ассоциации, тогда как величина

$$\alpha(T) = 1 - \beta(T) = \sum_i C_{P_{i1}} / C_{P_0} \quad (19)$$

является степенью диссоциации молекул Р.

Если молекула Р диссоциирует лишь одним единственным образом, т. е. если вероятности распада по иным возможным каналам пренебрежимо малы, то выражения (18) и (19) перейдут соответственно в следующие выражения:

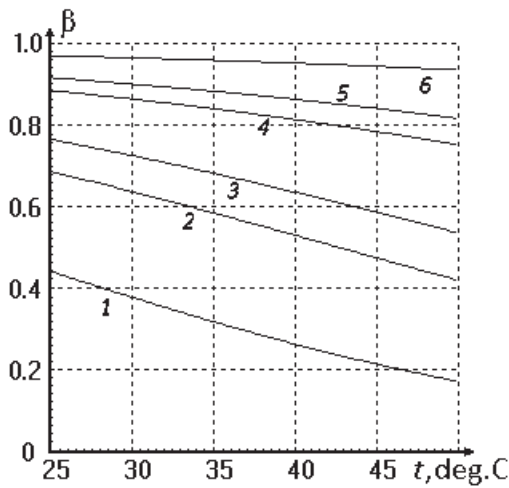


Рис. 3. Расчетные температурные зависимости степени ассоциации β димеров протеазы SARS-CoV-2 в водном растворе при различных концентрациях напуска C_{p_0} , мкмоль/л: 10 (1), 50 (2), 100 (3), 500 (4), 1000 (5), 10 000 (6). Расчет выполнен по данным статьи [1]

значения последних. Дополнительно поставим задачу найти по возможности более простую связь при сохранении физической разумности, т. е. содержащую возможно меньшее количество подбираемых параметров, с тем чтобы улучшить обусловленность задачи. Образу говоря, подготовим своего рода «косвенный эксперимент», т. е. используем известные экспериментальные данные в качестве исходных для отыскания нужной информации о неизвестных параметрах.

Допустим, что мы способны сами измерять зависимость $C_p(T)$ или, что в литературе такая зависимость приведена (способы измерений $C_p(T)$ излагаются, например, в статье [1]). Вначале предположим, что изучаемая молекула Р диссоциирует лишь одним единственным образом. Если принять, что в качестве аппроксимации $K_c(T)$ можно использовать формулу (11), то с помощью выражения (20) получим:

$$C_p(T) = C_{p_0} \left[1 + \frac{2}{\sqrt{1 + 4 \frac{C_{p_0}}{A} \exp\left(\frac{W_d}{kT}\right) - 1}} \right]^{-1} \quad (22)$$

Тогда переменную $C_p(T)$ можно аппроксимировать следующим выражением:

$$C_p(T) \approx A_1 \left[1 + \frac{2}{\sqrt{1 + 4A_2 \exp\left(\frac{A_3}{T}\right) - 1}} \right]^{-1}, \quad (23)$$

содержащим всего три подбираемых параметра: A_1 , A_2 , и A_3 (см. кривую 1 на рис. 4).

Ввиду существенной нелинейности аппроксимации (23) и невозможности линеаризации, для нахождения численных значений параметров следует использовать метод Левенберга – Маркварта [13]. После нахождения значений параметров аппроксимации A_1 , A_2 и A_3 можно рассчитать значения C_{p_0} , A и W_d в соответствии с выражением (22).

Приведем результаты нашей аппроксимации данных работы [1]: среднеквадратичная интегральная невязка – 1,72 %; $A_1 = 9,701$, $A_2 = 1,93 \cdot 10^{-9}$, $A_3 = 6503$.

Расчет регрессионной неопределенности, а также степени мультиколлинеарности затруднителен из-за сильной нелинейности аппроксимации. Однако для контроля можно

$$\beta(T) = \left(1 + \frac{2}{\sqrt{1 + 4C_{p_0}/K_c - 1}} \right)^{-1}; \quad (20)$$

$$\alpha(T) = 1 - \beta(T) = C_{p_1} / C_{p_0}. \quad (21)$$

На рис. 3 показана зависимость степени ассоциации β димеров протеазы SARS-CoV-2 от температуры при различных концентрациях напуска этих молекул в водном растворе. Расчет выполнен в настоящей работе по данным статьи [1], в соответствии с выражением (20); функция $K_c(T)$ вычислялась с помощью выражения (9).

Получение новой информации на основе известных данных

Выясним связь величин, которые можно измерять экспериментально (либо результаты измерений которых есть в литературе), с теми, которые не поддаются непосредственному измерению, — для того чтобы получить возможность вычислять

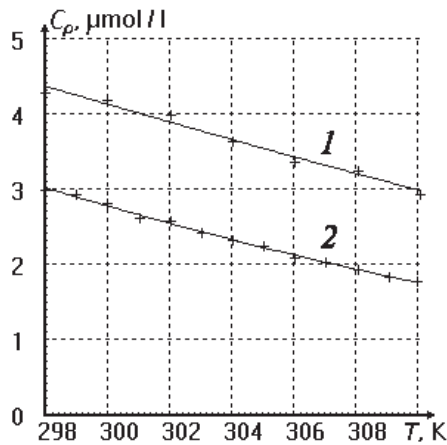


Рис. 4. Экспериментальные (символы) и аппроксимированные (линии) температурные зависимости концентрации недиссоциированных молекул в водном растворе ($C_{p_0} = 10$ мкмоль/л) для двух случаев:

1 – имелся один вариант диссоциации димер-мономер протеазы SARS-CoV-2 [1] (невязка 1,7 %); 2 (модельный) – наличие двух одновременных каналов диссоциации (невязка 1,3 %).

Выполнена аппроксимация выражением (23) по данным статьи [1]

сопоставить величины параметров, полученные из аппроксимации, с теми, которые известны из эксперимента (когда таковые имеются). Так например, в выражении (22) среди параметров была и величина C_{p_0} , которая была известна из экспериментов работы [1] и равна 10 мкмоль/л. Аппроксимация дала значение $C_{p_0} = 9,70$ мкмоль/л; погрешность составила 3 %, что вполне удовлетворительно.

Таким образом, результатов измерений одной зависимости $C_p(T)$ оказывается достаточно для оценки значений концентрации «сухого» вещества C_{p_0} энергии диссоциации молекулы W_{di} , а также предэкспоненциального множителя A в формуле (11). Заметим, что если анализы биожидкостей организмов проводятся *in vivo*, то величину C_p невозможно измерить непосредственно, так как биомолекулы при витальных температурах могут быть в значительной степени продиссоциированы. Знание же величины C_{p_0} может быть чрезвычайно важно при определении состояния организма.

Если термодиссоциация молекулы может протекать по нескольким различным каналам (см. реакцию (12)), то задача сводится к следующей аппроксимации:

$$C_p(T) = C_{p_0} \left[1 + \frac{2}{\sqrt{1 + \frac{4C_{p_0}}{\left(\sum_i \sqrt{A_i} \exp(-W_{di}/2kT) \right)^2} - 1}} \right]^{-1}. \quad (24)$$

Видно, что выражение (24) содержит сумму спадающих экспонент, у которых численные значения предэкспоненциальных множителей и показателей подлежат определению. Известно [13 – 15], что такая задача в общем виде является плохо обусловленной, а ее решение – крайне неустойчивым по отношению к малым погрешностям исходных экспериментальных данных, без явной гарантии получения удовлетворительных результатов.

Впрочем, в частном случае, когда одна из величин W_{di} много меньше остальных, все члены с этими остальными окажутся в формуле (24) пренебрежимо малыми, по сравнению с членом с минимальной величиной W_{di} , и задача сведется к уже рассмотренной задаче (22), (23) с одной экспонентой.

В другом частном случае, когда имеется несколько минимальных величин W_{di} , но они

незначительно различаются по величине, как показали контрольные модельные расчеты, можно взять выражение для аппроксимации таким же, как выражения (22) и (23). Правда, теперь параметр A_3 уже не совпадает с энергией диссоциации для какой-то конкретной реакции типа (12), а делается просто подгоночным параметром. Но величину C_{p_0} все же можно определить с приемлемой точностью. Пример такой аппроксимации приведен на рис. 4 (кривая 2); здесь рассмотрен случай двух одновременных каналов диссоциации. Модельные константы равновесия (в мкмоль/л) принимались в следующем виде:

$$K_{c1}(T) \approx 2,1 \cdot 10^{10} \exp\left(-\frac{6498}{T}\right); K_{c2}(T) \approx 3 \cdot 10^{10} \exp\left(-\frac{7003}{T}\right).$$

Значение C_p в модели мы задавали равным 10 мкмоль/л. Модельные «экспериментальные данные» $C_p(T)^0$ были вычислены как решение уравнения (17), затем к ним добавлялась случайная погрешность, дававшая интегральную среднеквадратичную невязку 1,2 %. В итоге были найдены следующие значения параметров аппроксимации (23):

$$A_1 = 10,60, A_2 = 5,5 \cdot 10^{-10}, A_3 = 6593.$$

Отметим, что здесь аппроксимация (23) дала значение $C_{p_0} \approx 10,6$ мкмоль/л (погрешность составила 6 %), что говорит об удовлетворительной точности воспроизведения величины C_{p_0} . Другие параметры, как и ожидалось, можно сопоставлять с параметрами констант равновесия только по порядку величины.

Заключение

В работе показано, что провести априорный, чисто теоретический количественный расчет константы равновесия $K_c(T)$ с приемлемой точностью невозможно, так как для биомолекул пока нельзя теоретически рассчитать предэкспоненциальный множитель A в уравнении Аррениуса с допустимой точностью. Причина состоит в отсутствии количественной информации о многих параметрах, входящих в выражения, которые предлагаются имеющимися теориями.

Однако в процессе решения поставленной задачи удалось установить, что знание температурной зависимости доли недиссоциированных димеров $C_p(T)$ позволяет, в частности, не только определить расчетным путем концентрации «сухого» вещества C_{p_0} но и восстановить значения энергии диссоциации димера, а также температурные зависимости константы равновесия, степеней ассоциации и диссоциации биологических молекул.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Silvestrini L., Belhaj N., Comez L., et al.** The dimer-monomer equilibrium of SARS-CoV-2 main protease is affected by small molecule inhibitors // *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11. 29 April. P. 9283.
2. **Sakamoto S., Caaveiro J. M. M., Sano E., Tanaka Y., Kudou M., Tsumoto K.** Contributions of interfacial residues of human interleukin15 to the specificity and affinity for its private α -receptor // *Journal of Molecular Biology*. 2009. Vol. 389. No. 5. Pp. 880–894.
3. **Кузнецова Е. М., Байрамов В. М., Федорович Н. В., Шевельков В. Ф.** Физическая химия в вопросах и ответах. Под ред. К. Ф. Топчиевой и Н. В. Федорович. М.: Изд-во Московского университета, 1981. 264 с.
4. **Кондратьев В. Н., Никитин Е. Е.** Химические процессы в газах. М.: Наука, 1981. 262 с.
5. **Панченков Г. М., Лебедев В. П.** Химическая кинетика и катализ. М.: Химия, 1985. 592 с.
6. **Кубасов А. А.** Химическая кинетика и катализ. В 2 ч. Часть 2. Теоретические основы химической кинетики. М.: Изд-во Московского университета, 2005. 158 с.
7. **Степухович А. Д., Уманский В. М.** Кинетика и механизм реакций тройной рекомбинации атомов и радикалов // *Успехи химии*. 1969. Т. 38. № 8. С. 1356–1389.
8. **Денисов Е. Т.** Кинетика гомогенных химических реакций. М.: Высшая школа, 1988. 391 с.
9. **Moratz T. J., Saunders T. D., Kushner M. J.** High temperature kinetics in He and Ne buffered XeF lasers: The effect on absorption // *Applied Physics Letters*. 1989. Vol. 54. No. 2. Pp. 102–104.
10. **Цыганов Д. Л.** Константа скорости диссоциации двухатомной молекулы в рамках модели ударного возмущенного осциллятора (SFO-модель) // *Теплофизика высоких температур*. 2014. Т. 52. № 4. С. 543–555.

11. Вигасин А. А., Макаров В. Н. Константа скорости диссоциации двухатомных молекул и квазидвухатомных димеров // Вестник МГУ. Серия 2. Химия. 2000. Т. 41. № 5. С. 96–101.
12. Калиткин Н. Н. Численные методы. М.: Наука, 1978. 512 с.
13. Демиденко Е. З. Оптимизация и регрессия. М.: Наука, 1989. 296 с.
14. Головицкий А. П. Обратные задачи экспериментальной физики. Практические аспекты. СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2001. 356 с.
15. Тайбин Б. З. Методы обнаружения параметров многоэкспоненциальных кривых релаксации. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1994. 104 с.

REFERENCES

1. Silvestrini L., Belhaj N., Comez L., et al., The dimer-monomer equilibrium of SARS-CoV-2 main protease is affected by small molecule inhibitors, *Sci. Rep.* 11 (29 April) (2021) 9283.
2. Sakamoto S., Caaveiro J. M. M., Sano E., et al., Contributions of interfacial residues of human interleukin15 to the specificity and affinity for its private α -receptor, *J. Mol. Biol.* 389 (5) (2009) 880–894.
3. Kuznetsova E. M., Bairamov V. M., Fedorovich N. V., Shevel'kov V. F., *Fizicheskaya khimiya v voprosakh i otvetakh* [Physical chemistry in questions and answers], Ed. by K. F. Topchiyev and N. V. Fedorovich, Moscow University Publ., Moscow, 1981 (in Russian).
4. Kondratiev V. N., Nikitin E. E., *Gas-phase reactions: Kinetics and mechanisms*, Springer, Berlin, 1981.
5. Panchenkov G. M., Lebedev V. P., *Chemical kinetics and catalysis*, Mir Publishers, Moscow, 1976.
6. Kubasov A. A., *Khimicheskaya kinetika i kataliz*, v 2 ch., Chast 2. Teoreticheskiye osnovy khimicheskoy kinetiki [Chemical kinetics and catalysis, in 2 parts. Part 2: Theoretical foundations of chemical kinetics], Moscow University Publishing, Moscow, 2005 (in Russian).
7. Stepukhovich A. D., Umanskiy V. M., *Kinetics and mechanism of three-body recombination of atoms and radicals*, *Russian Chemical Reviews.* 38 (8) (1969) 590–607.
8. Denisov E. T., *Kinetika gomogennykh khimicheskikh reaktsiy* [Kinetics of homogeneous chemical reactions], High School Publishing, Moscow, 1988 (in Russian).
9. Moratz T. J., Saunders T. D., Kushner M. J., High temperature kinetics in He and Ne buffered XeF lasers: The effect on absorption, *Appl. Phys. Lett.* 54 (2) (1989) 102–104.
10. Tsyganov D. L., The rate constant of diatomic molecule dissociation within the shock forced oscillator model (SFO-model), *High Temperature.* 52 (4) (2014) 518–529.
11. Vigin A. A., Makarov V. N., Dissociation rate constants for diatomics and quasidiatomic dimers. *Moscow University Chemistry Bulletin.* 41 (5) (2000) 300–304.
12. Kalitkin N. N., *Chislennyye metody* [Numerical methods], Nauka, Moscow, 1978 (in Russian).
13. Demidenko E. Z., *Optimizatsiya i regressiya* [Optimization and regression], Nauka, Moscow, 1989 (in Russian).
14. Golovitskii A. P., *Obratnyye zadachi eksperimentalnoy fiziki. Prakticheskiye aspekty* [Inverse problems of experimental physics: Practicality], SPSTU Publishing, St. Petersburg, 2001 (in Russian).
15. Taybin B. Z., *Metody obnaruzheniya parametrov mnogoeksponentsialnykh krivykh relaksatsii* [Detection procedure for finding the parameters of multi-exponential relaxation curves], SPbU Publishing, St. Petersburg, 1994 (in Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ГОЛОВИЦКИЙ Александр Петрович – доктор физико-математических наук, профессор Высшей инженерно-физической школы Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29
 alexandergolovitski@yahoo.com
 ORCID: 0000-0003-4292-0959

КЛЮЧКОВСКАЯ Юлия Алексеевна – студентка Института электроники и телекоммуникаций Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29
klyuchkovskaya2596@gmail.com

THE AUTHORS

GOLOVITSKII Alexander P.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia
alexandergolovitski@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-4292-0959

KLYUCHKOVSKAYA Julia A.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia
klyuchkovskaya2596@gmail.com

*Статья поступила в редакцию 19.09.2022. Одобрена после рецензирования 15.11.2022.
Принята 17.11.2022.*

Received 19.09.2022. Approved after reviewing 15.11.2022. Accepted 17.11.2022.