

X-波段电子顺磁共振的微观有序宏观无序谱分析

吴雪^{1,2}, Edmund Howard³, Yuri Nesmelov³, David D Thomas³

1. 南开大学物理学院, 天津 300071
2. 南开大学生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071
3. Department of Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics,
University of Minnesota, Minneapolis, MN55455, USA

摘要 相关时间和序参量是表征自旋探针标记大分子运动与分布的两个重要参数。用合适的物理模型, 通过线型分析同时确定这些参数在电子顺磁共振谱的解析中非常有意义。文章应用微观有序宏观无序(MO-MD)模型, 在 X-波段对具有轴对称磁参量自旋探针的 EPR 谱进行了模拟计算, 测量了波形的实验参数, 比较了与经验公式分析的误差。对于 MOMD 谱, 作者提出了分辨标准来筛选实验参数进行线型分析, 以此确定了同时解析相关时间及内部序参量的有效区间。

关键词 EPR 模拟; MOMD 模型; 相关时间; 序参量

中图分类号: O561.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)02-0209-04

引言

生命中的很多过程, 如蛋白质的结合, 酶反应过程中, 会伴随大分子的运动特性与结构的改变。当 EPR 谱(electronic paramagnetic resonance)的解析方法和转基因定点标记(SDSL—site direction spin label)技术结合后, 对膜蛋白以及马达蛋白的结构、运动和功能的研究提供了更为丰富的信息^[1-4], 是当前利用磁共振技术应用于生命科学中的重要组成部分。

描述大分子运动的相关时间 τ_r 以及序参量 S 一直是 EPR 谱学的重要参数。为了求得 τ_r , 通常采用均匀分布极限模型; 为了求得 S , 通常采用快速极限模型。然而绝大多数自旋探针标记样品都处于非极限状况, 不同的模型, 不同的物理参数可能得到完全相同的线型。因此, 采用适当的模型, 通过 EPR 谱线型分析同时确定出大分子运动的参量 τ_r 与 S 非常有意义。

在 20 世纪 80 年代和 90 年代, Freed 等又提出和发展了 MOMD 模型(MOMD—microscopic ordering and Macroscopic disorder), 用球谐函数来描述自旋标记探针随角度的分布势函数, 用正弦函数加权平均来计算 MOMD 谱, 并对不同 τ_r 和 S 的波谱进行了模拟计算^[5, 6]。

这样, 宏观的无序使微观有序的信息模糊化, 那么, 对于一个实验谱线应用 MOMD 模型是否还能从 EPR 谱中同

时解析出 τ_r 以及与微观分布相对应的序参量 S , 有效范围在哪里, 如何由合适的实验参数进行解析, 这在谱的解析中无法避免的问题。

我们通过模拟计算, 测量出实验参数, 然后提出筛选标准, 筛选出合适的实验参数, 通过不同实验参数的交点来确定 τ_r 和 S , 确定适用范围。

1 MOMD 模型和分析方法

1.1 MOMD 谱模拟

对于 MOMD 谱模拟, 为简化计算, 选择的磁参量具有轴对称性, 参数选择为: $g_{xx} = g_{yy} = 2.00741$, $g_{zz} = 2.00241$, $T_{xx} = T_{yy} = 7G$, $T_{zz} = 35G$, 洛伦兹线宽选择为峰—峰宽为 $2G$ ^[7], 设定分子为球形, 自旋探针与分子主轴夹角为 0 度, 分布势函数只用二阶球谐函数表示^[8]

$$U(\Omega) = -C_{20}(3\cos^2\theta - 1)kT/2 \quad (1)$$

由分布势定义的序参量 S_m 为^[8]

$$S_m = \frac{\int \frac{-C_{20}(3\cos^2\theta - 1)}{2} e^{-U(\Omega)/kT} d\Omega}{\int e^{-U(\Omega)/kT} d\Omega} \quad (2)$$

模拟计算时, 通过旋转扩散张量设定的相关时间取值范围为 $0.01 \text{ ns} \sim 1 \mu\text{s}$, 序参量 S_m 取值范围为 $0 \sim 0.98$ 。通过测量模拟的各谱线线型, 获得各种相关时间和序参量的实验参

收稿日期: 2005-12-09, 修订日期: 2006-03-08

基金项目: 南开大学创新基金资助

作者简介: 吴雪, 1969 年生, 南开大学物理学院副教授

e-mail: wuxue@eyou.com

数(式(1)中的 C_{20} 为势函数的系数)。

1.2 相关时间和序参数的线型估计

通过谱线对相关时间 τ_r 和序参数 S 进行简化估计时, 一般分别采用均匀分布模型和快速极限模型。公式中的参数如图 1 所示。

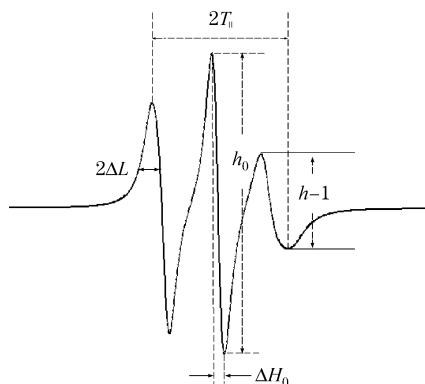


Fig. 1 The EPR lineshape and experiment parameter

对于均匀分布模型, 可进行相关时间的计算, 通常分为快速运动与慢速运动区域, 采用不同的公式进行计算。对于快速运动情况下相关时间的估计, 有经验公式^[9]

$$\tau_{rf} = 6.5 \times 10^{-10} \times \Delta H_0 \times \left[\sqrt{\frac{h_0}{h_{-1}}} - 1 \right] \quad (3)$$

其中, ΔH_0 是零场分裂的峰峰线宽, h_0 和 h_{-1} 分别是零场和高场的高度。

对于慢速运动下的相关时间估计, 有经验公式^[10]

$$\tau_{rs} = 5.4 \times 10^{-10} \times [1 - (T'_{\parallel} / T'_{\infty})]^{-1.36} \quad (4)$$

T' 和 T_{∞} 分别是谱线的超精细分裂和刚体极限谱的超精细分裂。在快速运动极限下, 可以通过谱线解析求得的序参数 S 为

$$S = \frac{2T'_{\parallel} - 2T_0}{2T'_{\infty} - 2T_0} \quad (5)$$

本文中, 通过改变分布势函数的系数 C_{20} 来设定内部序参数 S_m , 为区别于应用快速运动极限模型解析谱线得到的序参数 S , 我们称后者为表观序参数 S 。

1.3 实验参数的筛选标准

我们通过模拟计算。测量了一系列波形的实验参数, 获得各实验参数与 τ_r 和 S_m 的相关数据。为了筛选合适的实验参数确定 τ_r 和 S_m , 我们提出了一个分辨标准: 用两个对 τ_r 和 S_m 相关的实验参数 P_1, P_2 作为函数的变量, 定义分辨函数 $R(P_1, P_2)$, 寻找具有最大可分辨区域的实验参数。

对于任意两个实验参数 $P_1(S_m, \tau_r), P_2(S_m, \tau_r)$, 可以有

$$\begin{aligned} dP_1 &= \frac{\partial P_1}{\partial S_m} dS_m + \frac{\partial P_1}{\partial \tau_r} d\tau_r \\ dP_2 &= \frac{\partial P_2}{\partial S_m} dS_m + \frac{\partial P_2}{\partial \tau_r} d\tau_r \end{aligned} \quad (6)$$

定义一个分辨函数 $R(P_1, P_2)$ 为

$$R = \left| \frac{\partial P_1}{\partial S_m} \cdot \frac{\partial P_2}{\partial \tau_r} \right| + \left| \frac{\partial P_2}{\partial S_m} \cdot \frac{\partial P_1}{\partial \tau_r} \right| \quad (7)$$

这个分辨函数可利用实验参数 P_1, P_2 同时有效确定 τ_r 与 S_m : 当 P_1 可分辨 S_m 且 P_2 可分辨 τ_r , 或者当 P_2 可分辨 S_m 且 P_1 可分辨 τ_r , 此时可以同时有效确定 τ_r 与 S_m 。为了减小误差, 取分辨函数最大值的 1% 为阈值, 以此确定有效分辨区间, 即当 $R(P_1, P_2) \geq 0.01R_{\max}$ 认为是有效区域。

2 结果与讨论

2.1 相关时间和序参数的偏差

图 2 中给出的是 S_m 与 S 之间的偏差 $\Delta S = (S - S_m)$ 。

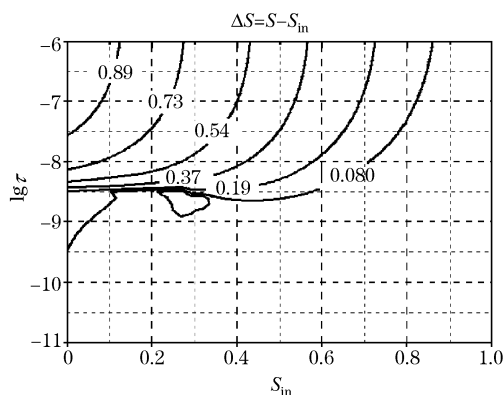


Fig. 2 The error of the observed S order parameter deviated from the internal S_m order parameter

(1) 当大分子在溶液中运动, $\tau_r < 0.3$ ns, 表观序参数 S 和内部序参数 S_m 误差小于 0.08, 通过公式能够比较准确地计算出序参数。这与传统上用公式(5)计算的表观序参量时, 需要假定运动相关时间小于 0.1 ns 的结论比较接近。

(2) 当 3 ns $< \tau_r < 10$ ns, 样品分布轻微有序时 ($0.1 < S_m < 0.3$), 这时利用公式(5)计算的误差迅速变大, 表观序参量 S 对时间变化更为敏感, $\tau_r > 10$ ns 时, 几乎和 S_m 不相关, 无法估计样品的分布信息。

图 3 为由线型估计得到的相关时间与真值之间的差异。由图可见实际相关时间在微弱有序的时候, 相差不大, 然而, 当高度有序时候, 相差甚远。

由图 3(a)和图 3(b)可见。

(1) 当 $\tau_r < 0.3$ ns, 微弱有序时, 应用快速运动模型分析相关时间比较准确, 达到 4 ns 后, 误差超过 100%。此时, 不宜应用快速运动模型。

(2) 在 $\tau_r > 2$ ns 左右时, 在 $S_m < 0.4$ 时, 应用慢速运动模型进行分析, 误差急剧减小, 此后, 随着相关时间或序参数的增加, 误差增长缓慢。在 $\tau_r \approx 100$ ns 附近, 在 $S_m < 0.7$, 应用慢速运动模型估计序参量是比较成功的。

(3) 当 $\tau_r > 400$ ns 时, 误差已经和 S_m 不再相关。高度有序和均匀分布慢速运动模型得到相同的谱线, 此时也不再好估计相关时间, 可以认为达到了“刚体极限”(Rigid limit), 得到“粉末谱”(Powder spectrum), EPR 已经不能同时给出相应的内部分布和运动信息。

总而言之, 应用快速运动模型分析相关时间, 只有样品在快速运动时间区域微弱有序分布才适用, 如自由的自旋标

记探针和自由的磁性粒子。而应用慢速运动模型估计相关时间,在非高度有序的情况下,能比较成功地预测相关时间,但不能准确预测序参量。这对于伴随功能改变,结构动力学的演变无法得到准确的结果。

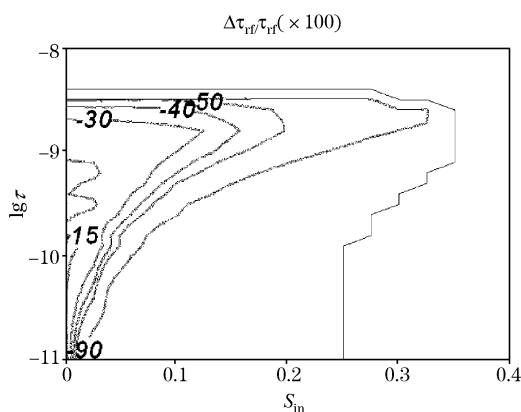


Fig. 3(a) The divergence of the correlation time analyzed with fast motion model

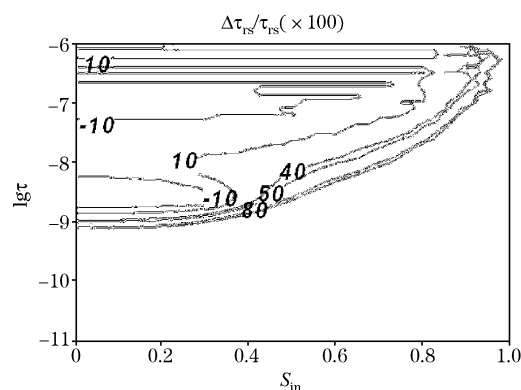


Fig. 3(b) The divergence of the correlation time analyzed with slow tumbling model

2.2 序参量和相关时间的同时确定

依据我们提出的分辨函数,筛选了谱线实验参数,可以在有比较大的范围内,同时有效确定相关时间 τ_r 和内部序参量 S_m ,如图4所示。

图4中各参数意义如图1所示, ΔL_r 是达到“刚体极限”时低场的半高度线宽,白色部分为有效范围区域。由图可见,当不同的谱线实验参数的等值线相交时,能够同时有效

确定相关时间 τ_r 和内部序参量 S_m ,可分辨区域与相关时间和内部微观分布的序参量相关。

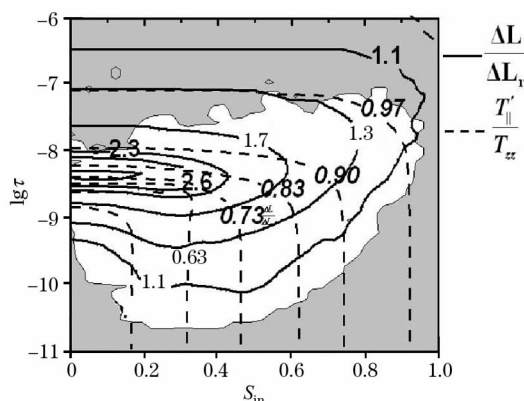


Fig. 4 The simultaneous determination of correlation time and S order parameter

(1) $\tau_r < 0.03$ ns 时,不够灵敏,因此无法有效地同时确定 τ_r 和 S_m ,这已经达到快速极限模型,只能确定序参量。甚至当 $\tau_r < 1$ ns 时, $S_m < 0.15$,灵敏度不是很好,但可分辨区域随 τ_r 增加而增大。

(2) 1 ns $< \tau_r < 10$ ns 区间,可比较好地同时分辨 τ_r 和 S_m ,这段区域是最灵敏的区域。

(3) 当 $\tau_r > 10$ ns 后,分辨能力随着 S_m 增加而增加。对于微弱有序的样品已经无法分辨出 S_m ,但是,对于非微弱分布的样品,在 $\tau_r > 100$ ns 时,仍然能够同时分辨出 τ_r 和 S_m 。这是由于在这一时间尺度,EPR 对 τ_r 有更好的分辨率,而在进行 MOMD 谱模拟中,对各方向的单一成分谱的加权平均降低了分辨率。

(4) 当 $S_m > 0.95$ 时,或 $\tau_r > 100$ ns 时,这一方法不易同时分辨内部序参量和相关时间。

4 结论

我们利用 MOMD 模型对具有轴对称磁参量自旋标记探针的 X-波段 EPR 谱进行了模拟计算,提出了分辨函数筛选实验参数。结果表明,对于 MOMD 谱,我们通过筛选出的实验参数能够在比较大的范围内有效地同时确定相关时间和内部序参量。当然,采用我们的方法,对线型的保真度要求很高,分辨的范围不是很大,这是由于模型本身造成的。

参 考 文 献

- [1] Nelson W, Blakely S E, Thomas D D, et al. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2005, 102: 4000.
- [2] Karim C B, Kirby T L, Thomas D D, et al. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2004, 101 (40): 14437.
- [3] Columbus L, Hubbell W. Trends in Biomedical Sciences, 2002, 27: 288.
- [4] Hubbell W, Cafiso D, Altenbach C. Nature Structural Biology, 2000, 7: 735.
- [5] Meirovitch E, Nayeem A, Freed J H. J. Phys. Chem. , 1984, 88: 3454.
- [6] Budil D E, Lee S, Saxena S, et al. J. Magn. Reson. A, 1996, 120: 155.
- [7] Howard E C, Lindahl K M, Thomas D D, et al. Biophys. J. , 1993, 64: 581.
- [8] Schneider D J, Freed J H. Biological Magnetic Resonance, Berliner L, Reuben J, eds. Volume 8, Menlo Park CA: Plenum Publishing Corporation, 1989.
- [9] Campbell I D, Dwek R A. Biological Spectroscopy. New York: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1984.
- [10] Freed J H, et al. Spin Labeling: Theory and Application. Berliner L J, Ed. , New York: Academic Press, 1976.

The Microscopic Ordering and Macroscopic Disorder Spectra Analysis of X-Band Electronic Paramagnetic Resonance

WU Xue^{1,2}, Edmund Howard³, Yuri Nesmelov³, David D Thomas³

1. The Institute of Physics, Nankai University, Tianjin 300071, China

2. The Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education (Nankai University), Tianjin 300071, China

3. Department of Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics, University of Minnesota, Minneapolis, MN55455, USA

Abstract The correlation time and S order parameter are two important parameters to characterize the moving and distribution of the spin labeled macromolecule. It is significant to determine them simultaneously by lineshape analysis with an appropriate physics model for EPR spectrum analysis. In the present paper, the microscopic ordering and macroscopic disorder model (MOMD) was adopted to simulate the X-band EPR spectra of spin label with axial symmetric magnetic tensors. The experimental parameters were measured, and the divergence between the real values and the empirical values was analyzed. For MOMD spectra the authors proposed a criteria to select the experimental parameters. With the selected parameters, the correlation time and the internal S order parameter could be obtained simultaneously. And the valid range determined by the recognition function is presented.

Keywords EPR simulation; MOMD model; Correlation time; S order parameter

(Received Dec. 9, 2005; accepted Mar. 8, 2006)