# Física Biológica

**Hans Frauenfelder y P.W. Fenimore**

*Los sistemas biológicos abarcan un rango enorme, desde moléculas pequeñas, pasando por proteínas, ácidos nucleicos y células hasta los seres vivos. La física biológica tiene como objetivo encontrar los conceptos y las leyes que explican el comportamiento de tales sistemas. Este artículo se limita al análisis de un sistema biológico "sencillo", la proteína. Aún así, la complejidad es sorprendente, emergiendo algunos de los conceptos cruciales que gobiernan los sistemas complejos. Además, las proteínas pueden considerarse "laboratorios físicos" naturales y permiten por ejemplo estudios de fenómenos de transporte y teorías de reacción.*

## 1. Introducción

Stam Ulam, famoso matemático (Fermi-Pasta-Ulam!) nos dijo una vez: "Veo lo que estáis tratando de hacer: preguntaros no lo que la Física puede aportar a la Biología sino lo que la Biología puede aportar a la Física". Los sistemas biológicos son extraordinariamente complejos ¿Cómo se puede entonces extraer de ellos información física significativa? ¿Será útil este conocimiento para comprender otros sistemas complejos? Mostraremos aquí que el estudio de sistemas biológicos relativamente simples, proteínas hemo, ha conducido a conceptos que pueden ser válidos con generalidad para todos los sistemas complejos. En muchos campos de la Física la evolución del conocimiento ha comprendido tres etapas distintas: estructura, niveles de energía y dinámica. En física atómica las tres etapas pueden conectarse con los nombres de Balmer, Bohr y Schrödinger. En física nuclear, física de la materia condensada y física de partículas pueden identificarse también las tres etapas. Aquí esbozaremos las tres etapas refiriéndonos a una proteína particular, la mioglobina (Mb).

La conexión entre Física y Biología es una vía de doble sentido, pero el tráfico pesado ha ido en uno solo de ellos. Las herramientas de la Física han tenido un enorme impacto en la Biología; la biofísica ha llevado a un conocimiento más profundo de muchos procesos biológicos. El tráfico de vuelta, la física biológica, en la cual las ideas biológicas conducen a conceptos físicos, ha sido ligero durante el siglo 20. Sin embargo, el estudio de sistemas biológicos ha producido ya alguna física interesante, en especial en lo que se refiere a sistemas complejos y desordenados. Aquí dirigimos nuestra atención a la física biológica al nivel molecular [1]. La física biológica es sin embargo mucho más amplia e incluye por ejemplo el estudio de las redes neuronales [2] y de la inmunología [3]. La literatura es ya inmensa y cualquier selección es personal. El objetivo aquí es transmitir algo del entusiasmo experimentado por los físicos en los estudios experimentales, teóricos y computacionales de biosistemas.

## 2. Estructura

La contribución más importante de la Física a la Biología moderna ha sido la difracción de rayos X. En 1953 James Watson y Francis Crick dedujeron la estructura de doble hélice del ADN [4]. En 1958 John Kendrew determinó la estructura de la mioglobina (Mb) [5]; muy pronto Max Perutz resolvió la estructura de la, mucho mayor, hemoglobina [6]. Estas determinaciones fueron empeños heroicos y supusieron años de duro trabajo, pero los esfuerzos fueron

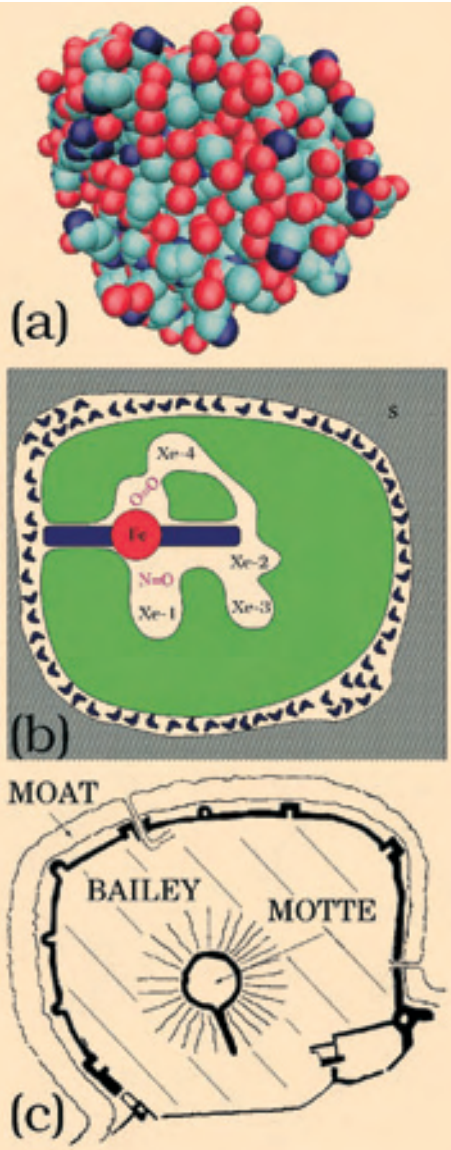


**Figura 1.** (a) La Mioglobina (Mb) según la idea de la mayor parte de los bioquímicos y cristalógrafos. En este esquema, la Mb aparece como un cristal aperiódico. Cada átomo está en su sitio adecuado y no se ve ningún hueco que permita la entrada o salida de moléculas pequeñas como CO u $O_2$. (b) Una sección transversal esquemática de la Mb. La cadena polipeptídica plegada está rodeada por una capa de hidratación, fina capa de moléculas de agua, de menos de unos 0.7 nm de grosor. Se muestran el grupo hemo con el átomo de hierro central y cinco cavidades. La zona verde indica la "plaza", parte de la proteína sin función evidente. (c) El castillo Gisors en Normandía: Un modelo de proteína del año 1096. (Moat = Foso, Bailey = Plaza o patio, Motte = Torre del Homenaje).

cruciales, ya que pusieron los fundamentos para la conexión entre estructura y función [7, 8, 9]. Los ordenadores, la radiación sincrotrón y mejores detectores han cambiado completamente el área. Más de 18000 estructuras se conocen ahora y están almacenadas en el Protein Data Bank [10]. La técnica de difracción de rayos X tiene dos limitaciones: 1. Requiere buenos cristales, pero no toda proteína puede ser cristalizada fácilmente. 2. Las moléculas de agua dentro de las biomoléculas no se pueden ver con facilidad. La primera limitación ha sido superada utilizando RMN para hacer la determinación de estructura [11, 12]. En cuanto a la segunda, la difracción de neutrones permite ver los átomos de hidrógeno directamente debido a su gran sección eficaz de difusión [13, 14, 15].

Las proteínas están hechas de 20 componentes diferentes, llamados aminoácidos. Todos ellos tienen la misma columna vertebral, $–N–C_\alpha–C$, pero distintas cadenas laterales unidas al carbono alfa. Del orden de unos pocos cientos de estos aminoácidos se unen de forma covalente para establecer la llamada estructura primaria. El orden según el cual los aminoácidos se combinan es dictado por el ADN. En el solvente adecuado, la cadena polipeptídica se pliega en una estructura secundaria y finalmente en la estructura terciaria funcional. El proceso real de plegado ha sido estudiado con gran detalle en los últimos veinte o treinta años. Los aspectos generales se conocen ahora razonablemente bien [16], pero las estructuras calculadas no son aún lo suficientemente próximas a las reales como para poder hacer predicciones funcionales. Para las discusiones siguientes usaremos principalmente la mioglobina. La Mb ha sido llamada el átomo de hidrógeno de la biología. Su papel básico es el almacenamiento de dioxígeno ($O_2$) en los músculos [17]. También tiene que ver, sin embargo, en las reacciones del óxido nítrico [18]. La estructura básica de la Mb fue desentrañada a partir del trabajo pionero de Kendrew y se ha vuelto a medir muchas veces. Se conoce la posición de cada átomo individual distinto del hidrógeno a diferentes temperaturas, bajo presión y para distintos mutantes de Mb [10]. La Fig. 1a es un esquema espacial de Van der Waals de la Mb y muestra que la proteína está casi densamente empaquetada. No se ve ningún canal de entrada o salida para el $O_2$ ni ninguna otra molécula pequeña. La entrada y salida del ligando debe ser por tanto un proceso dinámico de la proteína. La Fig. 1b muestra una sección transversal de la Mb como la representaría un físico. El grupo hemo, con un átomo de hierro central, está inmerso en la proteína. Se observan cinco cavidades. La cavidad hemo está en el lado llamado distal del grupo hemo, donde se muestra un $O_2$ unido de forma covalente al hierro del hemo. Las otras cuatro cavidades se denotan por Xe1 a Xe4. Sus nombres provienen del hecho de que estas cavidades se observaron por primera vez cuando se determinó la estructura de rayos X de la Mb en presencia de Xe [19]. Llamamos al grupo hemo y a las cuatro cavidades el "núcleo" o "centro activo". La parte de la proteína fuera del núcleo no tiene función inmediatamente obvia; la llamaremos la "plaza". La proteína está rodeada por la capa de hidratación, una o dos capas de moléculas de agua con propiedades diferentes de las del agua extensa. La sección transversal esquemática de la Fig. 1b permite la discusión de los procesos que dan información acerca de la complejidad y dinámica de la Mb. La Fig. 1c es el plano del castillo Gisors, en Normandía. Muestra los mismos aspectos básicos que la Mb, es decir, el centro activo o Torre del Homenaje, un foso o capa de hidratación y una parte entre la torre y el foso, la plaza. También se muestran algunas puertas que son dinámicas, pueden abrirse y cerrarse.

## 3. Las proteínas no están en una conformación única

Los niveles de energía de los sistemas físicos son cruciales para construir modelos y teorías. La serie de Balmer condujo a los niveles de energía del hidrógeno y al modelo de Bohr. Los niveles de energía nucleares ayudaron a establecer el modelo de capas del núcleo. El espectro rotacional del núcleo proporcionó más información, constriñendo los modelos nucleares. Bandas de energía e intervalos prohibidos de energía son esenciales para entender la conductividad eléctrica y térmica en los sólidos cristalinos. ¿Es el concepto de niveles de energía también importante en biomoléculas? En la mayor parte de los libros de texto las proteínas se describen como si tuviesen una estructura única, tal como se indica en la Fig. 1a. ¡Cada átomo en su lugar adecuado! Para un físico debe ser obvio que esta sentencia es falsa. Como ya se ha mencionado, el hecho de que la estructura estática de la Mb no muestre aberturas implica que la estructura de una proteína no puede ser estática, sino que debe fluctuar para admitir ligandos. Pero las fluctuaciones que abren canales requieren que los átomos ocupen diferentes posiciones en diferentes instantes. Las proteínas deben ser así capaces de adoptar diferentes conformaciones. Este argumento también implica que muchas propiedades de las proteínas no pueden ser distribuciones de funciones delta, sino distribuciones anchas. A continuación comentamos sólo un experimento de hace tiempo que nos llevó a postular la existencia de muchas conformaciones [20].

La fotolisis de flash es una técnica que se utiliza con diferentes nombres en muchos campos distintos. La idea es sencilla: iniciar una reacción mediante un flash de láser y seguirla luego en el tiempo para ver lo que sucede. En el caso de la mioglobina la reacción puede visualizarse remitiendo a la Fig. 1b. Se empieza con $O_2$ o CO ligado al hierro en el centro del grupo hemo. Un pulso de luz, usualmente de un láser, rompe el enlace covalente Fe=CO y el CO escapa. A temperatura ambiente, el CO se moverá en el solvente. A temperaturas criogénicas sin embargo, la proteína es rígida y el CO permanece en el bolsillo hemo y se reenlaza desde ahí. La cinética del ligando a baja temperatura puede describirse con ayuda de la Fig. 2a, que muestra un potencial de doble pozo. A denota el estado con el CO o $O_2$ unido al hierro, B el estado con el CO en el bolsillo hemo, pero no ligado al átomo de hierro. El resultado esperado después de un flash es claro. La probabilidad de que una molécula de Mb no haya religado su CO un tiempo $t$ después del flash es $N(t)$. Para una barrera única de altura $H$, el reenlace es exponencial, $N(t) = N(0)\exp(-kt)$. Los datos pueden verse en la Fig. 2b: el reenlace es fuertemente no exponencial con el tiempo y puede ser descrito por una ley potencial [20]:

$$N(t) = N(0)\left[1 + k(H)t\right]^{-n} \qquad (1)$$

La variación no exponencial se explica suponiendo que la Mb puede adoptar un gran número de conformaciones diferentes, llamadas subestados conformacionales [21], cada uno de ellos con una entalpía de activación diferente. Las transiciones sobre la barrera $H$ evolucionan según la ley de Arrhenius

$$k(H,T) = A\exp(-H / k_B T), \qquad (2)$$

donde $k(H,T)$ es el coeficiente cinético para la transición $B \rightarrow A$, el coeficiente $A$ es un prefactor entrópico y $k_B$ la constante de Boltzmann. Si $g(H)$ es la distribución de probabilidad de hallar una molécula de Mb con una barrera de altura comprendida entre $H$ y $H+dH$, $N(t)$ queda

$$N(T,t) = N(0)\int dH\, g(H)\exp\left[-k(H,T)t\right], \qquad (3)$$

donde $k(H,T)$ está dado en la ecuación (2). En la Fig. 2c se representan tres distribuciones de entalpía de activación diferentes. El ajuste de $g(H)$ a la cinética de recombinación Mb + CO → MbCO en un vidrio glicerol-agua se muestra en la Fig. 2b. Estos ajustes iniciales fueron ya convincentes en 1975 [20]. Enfoques más recientes funcionan aún mejor, pero los aspectos esenciales se ven claramente: una proteína dada, por ejemplo la Mb, puede adoptar un gran número de estructuras distintas. Sus propiedades deben ser descritas mediante distribuciones y, en consecuencia, algunas reacciones no son exponenciales con el tiempo. Aquí hemos descrito simplemente un experimento, pero las conclusiones están apoyadas en muchos experimentos y simulaciones de ordenador [22].

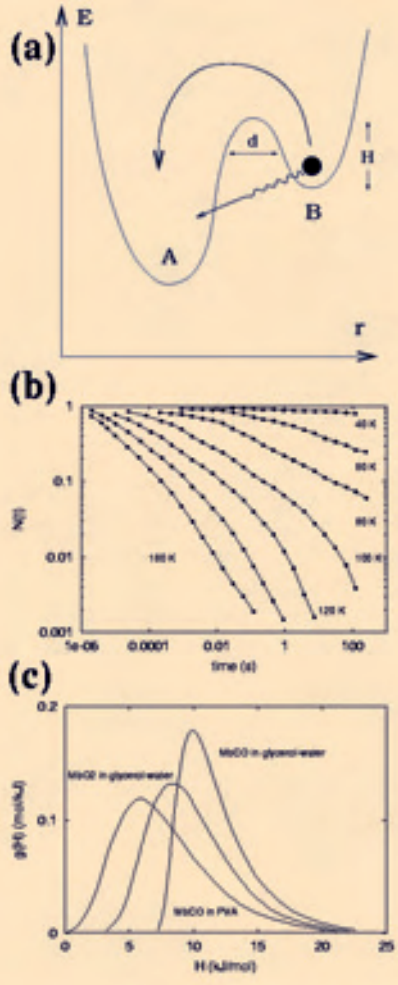


**Figura 2.** (a) Un sistema de doble pozo. El estado A representa MbCO, estado con el CO ligado al hierro del hemo. B es el estado con el CO en el bolsillo del hemo, pero no ligado al átomo de hierro. Clásicamente el CO puede reenlazarse saltando la barrera. Cuánticamente puede también pasar por efecto túnel a través de la barrera de altura $H$ y anchura $d$. (b) Reenlace después de fotodisociación a bajas temperaturas. Las líneas continuas son ajustes. (c) Tres distribuciones de entalpía de activación para el reenlace de CO y $O_2$ a la Mb a bajas temperaturas.

## 4. El paisaje de energía

¿Por qué puede una proteína adoptar diferentes estructuras y cómo describimos y clasificamos esas conformaciones? Notemos primero que las proteínas no son sistemas aislados. Están rodeadas por la capa de hidratación e inmersas en un solvente. El paisaje de energía no es una propiedad únicamente de la proteína desnuda; la capa de hidratación y una parte del solvente deben tenerse también en cuenta. Puede apreciarse ahora la multiplicidad de estados. Las cadenas laterales pueden adoptar diferentes conformaciones y las moléculas de agua en la capa de hidratación y el solvente pueden tener orientaciones distintas. Para describir completamente un subestado particular, debemos dar las coordenadas instantáneas de todos los átomos relevantes. Un subestado conformacional (SC) dado puede describirse así como un punto en un hiperespacio de unos pocos miles de coordenadas, como se esquematiza en la Fig. 3a, en la que el hiperespacio se ha proyectado sobre dos dimensiones. Se han dibujado unos pocos de los más de 3000 ejes conformacionales. Cada punto representa un SC particular. El paisaje de energía, a una temperatura dada, viene dado por la energía libre como función de las posiciones de todos los átomos. Un conjunto de moléculas de Mb es un enjambre de puntos en el espacio de conformación, semejante a una nube de mosquitos en el espacio real. El número de SC no se conoce, pero probablemente excede de $10^{10}$. Debido a que las proteínas son sistemas dinámicos, el enjambre no es estacionario, sino que las proteínas se mueven de SC a SC a temperatura ambiente. El enjambre de subestados no carece de forma, sino que está organizado jerárquicamente [23]. En la actualidad, la organización sólo se conoce de manera imperfecta; algunos rasgos generales se esquematizan en la Fig. 3b. Pueden distinguirse tres tipos diferentes de SC: taxonómicos, estadísticos y locales.

### Subestados taxonómicos (isómeros).

En la Mb, el nivel superior mostrado en la Fig. 3b consta de tres conformaciones distintas, llamadas $A_0$, $A_1$ y $A_3$. Están caracterizadas por las frecuencias de vibración del enlace $C$=0 [24]. Se llaman taxonómicas debido a que pueden caracterizarse individualmente y sus estructuras determinarse por separado. Las estructuras de $A_0$ y $A_1$, en particular, se han determinado por difracción de rayos X [25]. La diferencia principal entre las dos (aparte de cambios pequeños) es la posición de la histidina 64. El aminoácido está dentro del bolsillo del hemo en $A_1$, pero se extiende en el solvente en

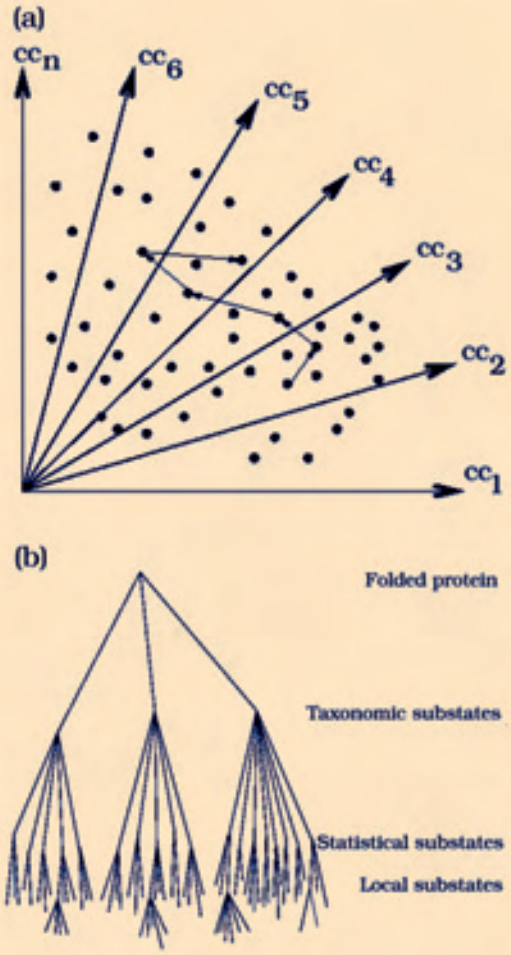


**Figura 3.** (a) Proyección del hiperespacio característico de una proteína en una conformación dada. Cada punto describe una conformación particular o subestado conformacional (SC). Se muestran algunas de las 3000 coordenadas conformacionales ($cc_n$) de la Mb.
(b) El paisaje de energía de la Mb, incluyendo la capa de la hidratación y una parte del solvente, está organizado jerárquicamente. En la actualidad se conocen tres tipos distintos de SC: taxonómicos, estadísticos y locales.

$A_0$. Los dos SC tienen también funciones distintas: $A_1$ almacena oxígeno, mientras que $A_0$ cataliza la conversión de NO a $NO_3^-$. La estructura de $A_3$ y su función no se conocen. Esperamos que esencialmente todas las proteínas tengan subestados taxonómicos. Los priones pueden ser un ejemplo particularmente dramático y los anticuerpos pueden también utilizarlos [26].

## Subestados estadísticos

Cada subestado taxonómico reenlaza CO no exponencialmente con el tiempo a baja temperatura [27]. Así un número muy grande de SC reside dentro de cada subestado taxonómico. Los llamamos "estadísticos" porque no pueden estudiarse y describirse individualmente. Los datos de baja temperatura implican que los subestados estadísticos dentro de un subestado taxonómico dado realizan la misma función, pero con ritmos diferentes.

## Subestados locales

Dentro de cada subestado estadístico una proteína puede todavía adoptar conformaciones ligeramente diferentes. Hay al menos tres niveles de tales "subestados locales" [28]. Estos subestados han sido estudiados por técnicas de "formación de huecos espectrales". La conexión de estos SC con la estructura y función no se conoce aún. Tampoco se conoce si son importantes para la función.

Esta descripción breve del paisaje de energía (o conformación) ya muestra que éste es mucho más complejo que el paisaje de energía en sistemas más sencillos, como los vidrios [29, 30, 31]. Actualmente, los rasgos generales del paisaje de energía se conocen sólo para la Mb, e incluso así podemos apreciarlos sólo vagamente. Antes de que se pueda tener una comprensión general será necesario mucho trabajo.

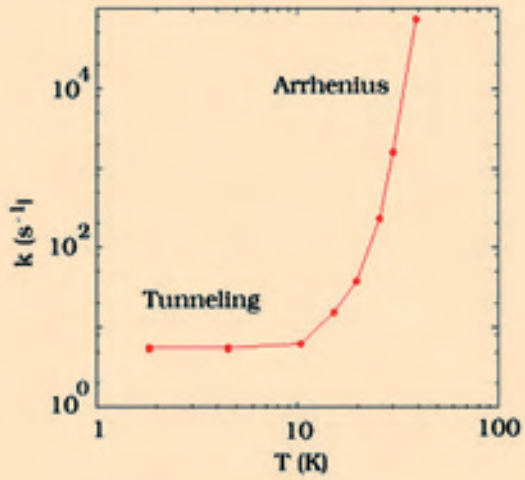


**Figura 4.** El ritmo de reenlace de CO a una de las cadenas separadas de hemoglobina. La parte que cae bruscamente corresponde al movimiento de Arrhenius clásico sobre la barrera. El ritmo aproximadamente independiente de la temperatura por debajo de aproximadamente 10 K se interpreta como efecto túnel cuántico a través de la barrera.

## 5. La proteína como un laboratorio

Podemos considerar el interior de la Mb como un nanolaboratorio. ¿Qué podemos aprender? Discutiremos únicamente un proceso, el efecto túnel molecular [32, 33]. La Fig. 2a muestra una transición clásica típica; la molécula de CO salta sobre la barrera para moverse de B a A. Cuánticamente, sin embargo, el CO podría pasar también por efecto túnel a través de la barrera. ¿Sucede esto? El ritmo de reacción para el paso por efecto túnel de una partícula de masa $M$ a través de una barrera de anchura $d$ y altura $H$ viene dado aproximadamente por

$$k_t = A \exp\left\{-\gamma [2MH]^{1/2} d / h\right\}, \qquad (4)$$

donde γ es una constante del orden de la unidad. Debido a su dependencia con la masa, los electrones pasan por efecto túnel con facilidad en sistema biológicos y realmente, los fenómenos de efecto túnel electrónico son un campo fascinante. Los protones también presentan efecto túnel, pero ¿debería poderse observar el efecto túnel de moléculas tan grandes como el CO? La Mb, o en general las proteínas

hemo, ofrecen la posibilidad de estudiar este proceso. Realmente, se ha observado el efecto [34]. En la Fig. 4 se muestra el ritmo de reenlace de ligando a temperaturas criogénicas en una proteína hemo con una barrera $H$ pequeña, tal como una cadena separada de hemoglobina. Claramente hay dos regímenes, uno de Arrhenius con fuerte dependencia con la temperatura y otro de efecto túnel esencialmente independiente de la temperatura.

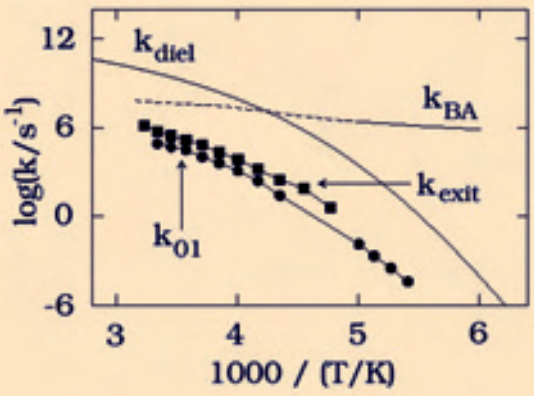


**Figura 5.** Movimientos esclavizados y no esclavizados. Se muestran los coeficientes cinéticos para varios procesos en función de $T$. Los movimientos esclavizados, por ejemplo las fluctuaciones entre los subestados taxonómicos $A_0$ y $A_1$ (círculos) o la salida al solvente (cuadrados) siguen el ritmo de relajación dieléctrica en el solvente ($k_{diel}$) sobre muchos órdenes de magnitud. Los movimientos no esclavizados, como el enlace covalente en el hemo, $k_{BA}$, no se ven afectados por el solvente.

## 6. Esclavización

Las proteínas son máquinas que interactúan con el medio ambiente. Podemos esperar distintos tipos de movimiento, algunos independientes del medio y otros gobernados por él. Para llegar a comprender estas posibilidades, volvamos de nuevo a la Mb. En la Fig. 5 mostramos la dependencia con la temperatura, $k(T)$, de algunos coeficientes cinéticos seleccionados. El ritmo de fluctuación dieléctrica del solvente [35], esencialmente el ritmo de volteo de las moléculas de agua, se denota por $k_{diel}$. Los coeficientes cinéticos para la etapa de enlace covalente $B \rightarrow A$ ($k_{BA}$) y para la salida del CO de la Mb ($k_{exit}$) se miden siguiendo a una molécula de CO después de la fotodisociación [20, 36]. La transición entre los subestados taxonómicos $A_0$ y $A_1$ se denota por $k_{01}$. La Fig. 5 muestra dos clases muy distintas de movimientos, esclavizado y no esclavizado. En el solvente "estándar", 3/1 v/v glicerol/agua, $k_{diel}$ cambia aproximadamente de $10^{11}$ s$^{-1}$ a $10^{-4}$ s$^{-1}$, entre 300 K y 160 K, 15 órdenes de magnitud. Dos movimientos esclavizados, la salida de CO y las transiciones entre los subestados taxonómicos, siguen a las fluctuaciones del solvente sobre el rango completo de temperaturas en el que pueden ser observados. La dependencia con la temperatura de estos movimientos no sigue la ley de Arrhenius, Eq. (2). Si se intenta el ajuste a esta ley, el factor que precede a la exponencial resulta excesivamente grande para tener sentido físico. La relación empírica Vogel-Tammann-Fulcher,

$$k(T) = A_{\nu} \exp\left[-H_{\nu} / k_B (T - T_0)\right], \qquad (5)$$

sin embargo, se ajusta bien a los datos. Movimientos no esclavizados, en este caso el enlace covalente de un ligando (CO) al átomo de hierro del hemo, no siguen a $k_{diel}$ y por lo tanto no están acoplados a fluctuaciones del solvente. Pueden ajustarse a la relación de Arrhenius, Eq. (2), con valores razonables del factor preexponencial $A$. Los movimientos no esclavizados de la proteína pueden apreciarse intuitivamente. El núcleo de la proteína es similar a un sólido [37] y apantalla el movimiento del CO de la dinámica del solvente. La esclavización, sin embargo, origina un problema: si los movimientos esclavizados siguen la dependencia con la temperatura del solvente, no tienen barreras de energía interna. ¿Cuál es entonces la causa de la reducción en los coeficientes cinéticos, visible en la Fig. 5?

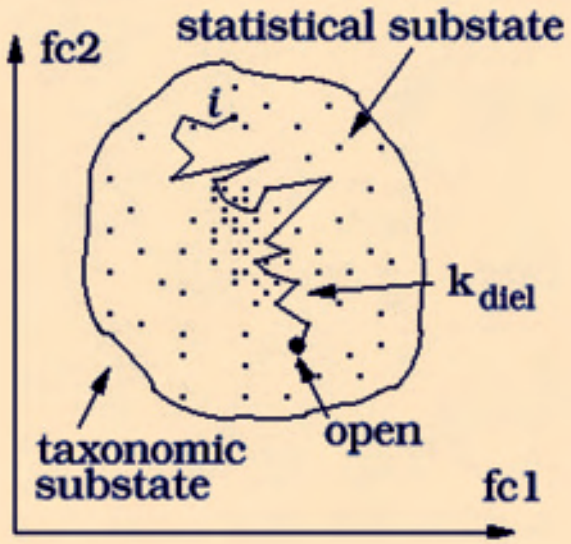


**Figura 6.** Sección transversal bidimensional del paisaje de energía de la Mb. Las coordenadas funcionales fc1 y fc2 describen las transiciones entre los subestados seleccionados. El pequeño subconjunto denotado por "open", representa subestados de la proteína que tienen un camino abierto entre el interior de la proteína y el solvente. Una proteína en un subestado $i$ realiza un camino aleatorio en el espacio de conformaciones hasta que alcanza los subestados abiertos, de modo que un ligando puede entrar o salir.

Si, por ejemplo, las barreras que frenan el movimiento de la histidina distal hacia dentro y hacia fuera del bolsillo hemo no son entálpicas, deben ser entrópicas. ¿Cómo puede describirse y explicarse este aspecto? Proponemos el modelo que se ilustra en la Fig. 6. Esta figura representa una sección bidimensional del hiperespacio de todos los subestados estadísticos en un subestado taxonómico. Las coordenadas funcionales fc1 y fc2 describen las transiciones entre subestados seleccionados. Una proteína en un subestado taxonómico dado $i$ realiza un recorrido aleatorio en el hiperespacio de las conformaciones de la proteína [38] hasta que alcanza el subconjunto de los subestados en los que la proteína tiene un camino abierto (denotado por "open") entre el interior y el solvente. Un ligando puede entonces entrar o salir de la proteína. Por sencillez suponemos que cada paso individual entre subestados estadísticos adyacentes tiene lugar con el coeficiente cinético $k_{diel}$. A menos que haya movimiento del

solvente, la proteína no puede pasar de un subestado estadístico a otro. Este modelo puede explicar el carácter no exponencial de muchos procesos y el hecho de que procesos esclavizados de la proteína puedan seguir las fluctuaciones del solvente, pero sean más lentos.

## 7. Perspectiva

El título de este artículo es en realidad engañoso; el artículo no trata de la Física Biológica, sino solo de una pequeña parte de ella, la física de algunas proteínas e incluso solo de una pequeña parte de este campo. La Física Biológica en su conjunto es mucho más amplia y está solo en sus comienzos. A los físicos que entren en esta área les esperan aventuras apasionantes. Ácidos nucleicos (ADN, ARN), proteínas de membrana, membranas, redes de proteínas, redes neuronales, química y difusión del oxígeno y el estudio microscópico de la actina y miosina –por citar solo unos pocos temas– ofrecen posibilidades para investigar conceptos y leyes físicas generales. Buena suerte.

Los autores han sido financiados por el U.S. Department of Energy bajo el contrato -7405-ENG-36

## Bibliografía


[1] H. Frauenfelder, P. G. Wolynes, and R.A. Austin, *Biological Physics* **71**, S419-S429 (1999).

[2] J. Hertz, A. Krogh, and R. G. Palmer, Introduction to the Theory of Neural Computation. Addison-Wesley, Reading MA, 1991.

[3] A. S. Perelson and G. Weisbuch, Immunology for Physicists. *Rev. Mod. Phys*. **69**, 1219-1267 (1997).

[4] J. D. Watson and F. H. C. Crick, Molecular structure of nucleic acids - A structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature* **171**, 737-738 (1953).

[5] J. C. Kendrew, G. Bodo, H. M. Dintzis, R. G. Parrish, H. Wyckoff, D. C. Phillips 3-Dimensional model of the myoglobin molecule obtained by X-ray analysis. *Nature* **181**, 662-666 (1958).

[6] M. F. Perutz, H. Muirhead, J. M. Cox and L. C. G. Goaman. 3-dimensional Fourier synthesis of horse oxyhaemoglobin at 2.8Å resolution - atomic model. *Nature* **219**, 131 (1968).

[7] C. Branden and J. Tooze, Introduction to Protein Structure. Garland Publishing, New York, 1991.

[8] M. Daune, Molecular Biophysics. Oxford University Press, 1999.

[9] A. Fersht, Structure and Mechanism in Protein Science. W. H. Freeman, New York, 1999.

[10] Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>.

[11] K. Wüthrich, NMR of Proteins and Nucleic Acids. Wiley, New York, 1986.

[12] G. Wagner, S. G. Hyberts, T. F. Havel, NMR Structure determination in Solution: Critique and Comparison with X-Ray Crystallography. Annu. Rev. Biophysics and Biomolecular Structure 21, 167-198 (1992).

[13] B. P. Schoenborn and R. B. Knott, Neutrons in Biology. Plenum, New York. 1996.

[14] F. Shu, V. Ramakrishnan, and B. P. Schoenborn, Enhanced visibility of hydrogen atoms by neutron crystallography on fully deuterated myoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 97, 3872-3877 (2000).

[15] A. Ostermann, I. Tanaka, N. Engler, N. Nimura, and F. G. Parak, Hydrogen and deuterium in myoglobin as seen by neutron structure determination and 1.5 Å resolution. *Biophys. Chem.* **95**, 183-193 (2002).

[16] J. N. Onuchic, Z. Luthey-Schulten, and P. G. Wolynes. Theory of protein folding: The energy landscape perspective. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **48**, 545-600 (1997).

[17] L. Stryer, Biochemistry. W. H. Freeman, New York, 1995.

[18] H. Frauenfelder, B. H. McMahon, R. H. Austin, K. Chu, and J. T. Groves. The role of structure, energy landscape, dynamics,and allostery in the enzymatic function of myoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **98**, 2370-2374 (2001).

[19] B. P. Schoenborn, H. C. Watson and J. C. Kendrew. Binding of Xenon to sperm whale myoglobin. *Nature* **207**, 28 (1965).

[20] R. H. Austin, K. W. Beeson, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, and I. C. Gunsalus. Dynamics of ligand binding to myoglobin. *Biochemistry* **13**, 5355-5373 (1975).

[21] H. Frauenfelder, G. A. Petsko, and D. Tsernoglou. Temperature-dependent X-ray diffraction as a probe of protein structural dynamics. *Nature* **280**, 558-563(1979).

[22] H. Frauenfelder, S. G. Sligar, and P. G. Wolynes. The energy landscapes and motions of proteins. *Science* **254**, 1598-1603 (1991).

[23] A. Ansari, J. Berendzen, S. F. Bowne, H. Frauenfelder, I. E. T. Iben, T. B. Sauke, E. Shyamsunder, and R. D. Young. Protein states and proteinquakes. *Proc. Nal. Acad. Sci.* USA, **82**, 5000-5004 (1985).

[24] J. O. Alben, D. Beece, S. F. Bowne, W. Doster, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, D. Good, J. D. McDonald, M. C. Marden, P. P. Moh, L. Reinisch, A. H. Reynolds, E. Shyamsunder, and K. T. Yue. Infrared spectroscopy of photodissociated carboxymyoglobin at low temperatures. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, 79, 3744-3748 (1982).

[25] F. Yang and G. N. Phillips Jr. Crystal structures of CO-, deoxy- and met-myoglobins at various pH values. *J. Mol. Biol.* **256**, 762-774 (1996).

[26] L. C. James, P. Roversi, and D. S. Tawfik. Antibody multispecificity mediated by conformational diversity. *Science*, **299**, 1362-1367, (2003).

[27] J. B. Johnson, D. C. Lamb, H. Frauenfelder, J. D. Müller, B. McMahon, G. U. Nienhaus, and R. D. Young. Ligand binding to heme proteins VI. Interconversion of taxonomic substates in carbonmonoxymyoglobin. *Biophys.* J. **71**, 1563-1573 (1996).

[28] D. T. Thorn-Leeson, D. A. Wiersma, K. Fritsch, and J. Friedrich. The energy landscape of myoglobin: An optical study. *J. Phys. Chem*. B **101**, 6331-6340 (1997).

[29] F. H. Stillinger. A topographic view of supercooled liquids and glass formation. *Science* **267**, 1935-1939 (1995).

[30] P. G. Debenedetti and F. H. Stillinger. Supercooled liquids and the glass transition. *Nature* **410**, 259-267 (2001).

[31] J. Schlichter and J. Friedrich, Glasses and proteins: Similarities and differences in their spectral diffusion dynamics. *J. Chem. Phys.* **114**, 8718-8721 (2001).

[32] B. Chance, D. C. DeVault, H. Frauenfelder, R. A. Marcus, J. R. Schrieffer, and N. Syutin. Eds. Tunneling in Biological Systems. Academic Press, New York, 1979.

[33] D. DeVault, Quantum-mechanical tunneling in biological systems. Cambridge University Press, 1984.

[34] N. Alberding, R. H. Austin, K. W. Beeson, S. S. Chan, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, T. M. Nordlund. Tunneling in ligand binding to heme proteins. *Science* **192**, 1002-1004 (1976).

[35] J. R. Huck, G. A. Noyel, and L. J. Jorat, Dielectric properties of supercooled glycerol-water solutions. IEEE Transactions on *Electrical Insulation* **23**, 627-637 (1988).

[36] T. Kleinert, W. Doster, H. Leyser, W. Petry, V. Schwarz, and M. Settles. Solvent composition and viscosity effects on the kinetics of CO binding to horse myoglobin. *Biochemistry* **37**, 717-733 (1998).

[37] H. Frauenfelder, G. A. Petsko, and D. Tsernoglou. Temperature-dependent X-ray diffraction as a probe of protein structural dynamics. *Nature* **280**, 558-563 (1979).

[38] W. Nadler and K. Schulten, *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA **81**, 5719-5723 (1984).


**Hans Frauenfelder y P.W. Fenimore**
*están en el Center for Nonlinear Studies,*
*Los Alamos National Laboratory*
*Traducido por Miguel Sancho*