

УДК 539.19

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА СОПРЯЖЕННЫХ РЕАКЦИЙ ПЕРЕНОСА ПРОТОНОВ И ЭЛЕКТРОНОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ: РАСЧЕТЫ МЕТОДОМ КМ/ММ ДЛЯ ЦИНК-ХИНОННЫХ КОМПЛЕКСОВ

И.В. Долгова, Б.Л. Григоренко, А.В. Немухин, Ян Сунь*, Си-Чен Ай*, Цзи-Юань Чжан*

(кафедра физической химии)

Механизм сопряженных реакций переноса протонов и электронов в бактериальных фотосинтетических реакционных центрах (БФРЦ) исследован комбинированными методами квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ). Молекулярные модели были построены на основе экспериментальных рентгеноструктурных данных для БФРЦ из бактерии *Rhodobacter sphaeroides* (код банка данных белковых структур 1AIG), в которых ион железа был заменен на цинк.

Бактериальный фотосинтетический реакционный центр (БФРЦ), играющий основную роль в процессе фотосинтеза, содержит первичный донор электронов (димер бактериохлорофилла) и цепь акцепторов электронов. При воздействии квантов света на первичный донор электронов из него выбивается электрон, попадающий на молекулу бактериофеофетина. Затем электрон переносится на первичный хинон (Q_A) и далее — на вторичный (Q_B). После двух-электронного восстановления вторичного хинона и сопряженного присоединения к нему двух протонов образуется молекула хинола (схема), способная покинуть фотосинтетический реакционный центр и перенести два протона против градиента концентраций через мембрану клетки.

Несмотря на то что изучению механизма работы БФРЦ посвящено большое число исследований [1], до сих пор не выработано единой точки зрения относительно последовательности сопряженных реакций передачи протонов и электронов, путей переноса протонов, а также интермедиатов, образующихся в процессе восстановления хинонов. Молекуляр-

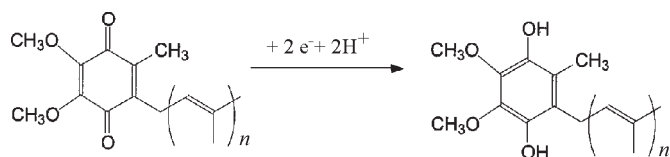
ное моделирование может быть полезным инструментом, дополняющим результаты экспериментальных исследований методами рентгеноструктурного анализа [1, 2], ЭПР [3] и ИК-спектроскопии [4, 5], однако предшествующие теоретические подходы, включающие квантово-химические [6–8] и молекулярно-динамические [9] расчеты строения и свойств фрагментов БФРЦ, не позволяют однозначно описать пути реакций.

В настоящем сообщении приведены результаты расчетов комбинированным методом квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) геометрических параметров и энергии для достаточно больших молекулярных комплексов, моделирующих металлические сайты БФРЦ, позволяющие прояснить детали механизма сопряженных реакций переноса протонов и электронов в БФРЦ.

Методика расчетов

В данной работе результатами моделирования являются характеристики стационарных точек на многоатомных многомерных поверхностях потенциальной энергии для выбранной молекулярной модели, на основании которых можно высказать предположения о механизме реакции восстановления вторичного хинона в БФРЦ. Расчет геометрических параметров и энергий стационарных точек проводили комбинированным методом КМ/ММ с конформационно подвижными эффективными фрагментами [10, 11]. Разделение всей молекулярной системы на КМ- и

С х е м а



*Институт химии Китайской академии наук.

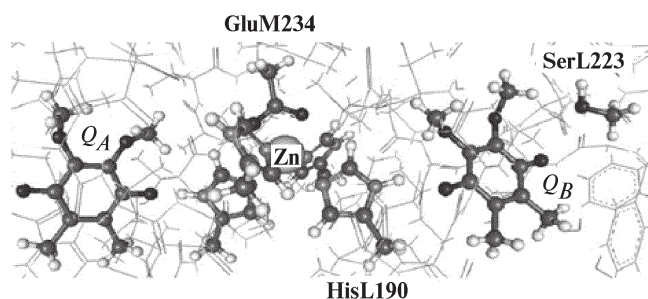


Рис. 1. Модельная молекулярная система для расчетов методом КМ/ММ. Шарами и стержнями обозначены атомы, включенные в КМ-подсистему

ММ-части проводили несколькими способами, но большинство результатов получено для модели, изображенной на рис. 1

Начальные координаты тяжелых атомов были выбраны на основе экспериментальных рентгеноструктурных данных для БФРЦ из бактерии *Rhodobacter sphaeroides* (код банка данных белковых структур 1AIG). Данная структура отвечает ближней позиции вторичного хинона Q_B по отношению к иону металла [12]. Квантовая часть включала обе молекулы убихинона без боковых изопреновых цепей, ион металла, боковые цепи пяти аминокислотных остатков (HisL190, HisL230, HisM219, HisM266, GluM234), координируемых металлом, а также боковую цепь серина SerL223. Включение остатка SerL223 в КМ-подсистему обосновано предположением, что именно протоны от HisL190 и SerL223 переносятся на вторичный хинон Q_B . Молекулярно-механические подсистемы, схематично показанные линиями на рис. 1, состояли из сотен атомов белка из ближайшего окружения металлического сайта. Экспериментальные данные показывают [13], что замена Fe^{2+} в БФРЦ на двухзарядные катионы ряда других металлов, в частности цинка, не нарушает функционирования всей молекулярной машины. Технически квантово-химические расчеты значительно легче проводить для комплексов с ионом Zn^{2+} , имеющим замкнутую электронную оболочку.

После добавления атомов водорода к выбранной на основе структуры 1AIG подсистеме тяжелых атомов была проведена полная оптимизация геометрических параметров в квантовой подсистеме и частичная в ММ-подсистеме с минимизацией полной энергии в приближении КМ/ММ. В соответствии с обычной практикой моделирования белковых структур присутствующие в ММ-части аминокислотные остатки GluL212 и AspL213 в исходном состоянии считались депротонированными. Расчеты энергии и сил в квантовой подсистеме были выполнены методом Хартри–Фока с использованием базиса 6-31G,

а в молекулярно-механической подсистеме — с силовыми полями AMBER.

Результаты расчетов

Начальная серия вычислений была проведена для синглетного состояния квантовой части с зарядом +1. Полученная равновесная геометрическая конфигурация (рис. 1) достаточно разумно согласуется с экспериментальной структурой 1AIG. Следующим шагом была оптимизация геометрических параметров всей системы и расчет энергии с дополнительным электроном в квантовой подсистеме в дублетном состоянии. По результатам этих расчетов можно сделать вывод, что добавление электрона к цинк-хинонному комплексу приводит к стабильной электронной структуре с локализацией дополнительного электрона на первичном хиноне Q_A . Для адиабатического сродства к электрону получено значение 0,74 эВ, что является заниженной оценкой, поскольку в расчетах использованы квантово-химические методы без учета электронной корреляции и небольшие базисы для представления орбиталей. Очевидно, что данный расчет моделирует стадию процессов в БФРЦ, приводящую к переносу электрона на Q_A . Единственным заметным изменением геометрической конфигурации по сравнению с исходным состоянием является смещение карбоксильной группы GluM234 в несимметричное относительно иона металла положение. Оценка энергетических профилей реакций переноса протонов на Q_A и Q_B с соседних протон-донорных групп показывает, что соответствующие барьеры должны быть достаточно высокими.

При добавлении второго электрона в квантовую подсистему возникает электронная структура, не отвечающая связанному состоянию (адиабатическое сродство к электрону отрицательно). Значения разности энергий (–1,4 и –4,2 эВ в триплетном и в синглетном состояниях соответственно) достаточно велики по абсолютной величине, и усовершенствование методики расчета в квантовой части не изменит качественное заключение о нестабильности электронной структуры комплекса с двумя дополнительными электронами. Достаточно точные предварительные расчеты энергии сродства к электрону молекул *n*-бензохинона и убихинона многоконfigurационными методами самосогласованного поля и по теории функционала электронной плотности показали, что подобные молекулы не могут принимать два электрона (по крайней мере в газовой фазе), что объясняет невозможность локализации второго дополнительного электрона на первичном хиноне Q_A . Невозможность локализации второго электрона на вторичном хиноне Q_B можно объяснить другими причинами, а именно наличием отрицательно за-

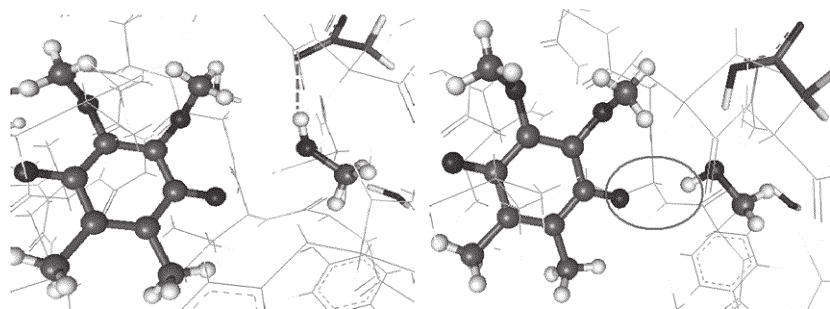


Рис. 2. Фрагмент модельной молекулярной системы вблизи вторичного хинона Q_B по результатам расчетов методом КМ/ММ (слева показан вариант с непротонированным остатком AspL213, а справа — с протонированным)

ряженных аминокислотных остатков GluL212 и AspL213 в непосредственной близости от Q_B . Таким образом, перенос протонов по ориентированным цепям молекул воды из окружающей среды к GluL212 и AspL213, по-видимому, является необходимой предпосылкой передачи электронов на Q_B .

Протонирование AspL213 необходимо также и для процесса переноса протонов на вторичный хинон Q_B . На левой половине рис. 2 показан фрагмент рассчитанной равновесной геометрической конфигурации системы с двумя дополнительными электронами с непротонированным остатком AspL213. Видно, что протон SerL223 участвует в образовании водородной связи с AspL213 (показана пунктиром на рис. 2), что делает возможным передачу этого протона на Q_B с невысоким энергетическим барьером.

В то же время оптимизация геометрических параметров цинк-хинонного комплекса с протонированным остатком AspL213 и одним дополнительным электроном приводит к получению структуры, показанной на правой стороне рис. 2. В этом случае

создаются предпосылки к передаче протона с SerL223 на вторичный хинон Q_B вдоль водородной связи, выделенной овалом на рис. 2.

Результаты расчетов методом КМ/ММ равновесных геометрических конфигураций и энергий цинк-хинонных комплексов в белковом окружении с разным числом электронов в квантовой части показывают, что захват первого электрона Q_A не сопровождается переносами протонов на молекулы хинонов. Добавление второго электрона в квантовую подсистему приводит к нестабильной электронной структуре, если аминокислотные остатки GluL212 и AspL213 вблизи вторичного хинона непротонированы. Эти результаты согласуются с последними экспериментальными данными о роли протонирования остатков GluL212 и AspL213 при функционировании БФРЦ [2]. В частности, после протонирования AspL213 и соответствующего изменения конформации SerL223 расположение сетки водородных связей должно благоприятствовать переносу протонов и восстановлению Q_B .

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Государственного фонда естественных наук Китая (грант РФФИ 02-03-39014-ГФЕН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Okamura M.Y., Paddock M.L., Graige M.S., Feher G.G. // Biochim.Biophys.Acta. 2000. **1456**. P. 148.
2. Xu Q., Axelrod H.L., Abresch E.C., Paddock M.L., Okamura M.Y., Feher G.G. // Structure. 2004. **12**. P. 703.
3. Schnegg A., Fuhs M., Roher M., Lubitz W., Prisner T. F. // J. Phys. Chem. B. 2002. **106**. P. 9454.
4. Breton J. // Biochemistry. 2004. **43**. P. 3318.
5. Brudler R., Gerwert K. // Photosynthetic Res. 1998. **55**. P. 261.
6. Ma S.H., Zhang R.B., Qu Z.W., Zhang X.K., Zhang Q.Y. // Acta Botanica Sinica. 2002. **44**. P. 1409.
7. Hasewaga J.Y., Ishida M., Nakatsuji H., Lu Z., Liu H., Yang W. // J. Phys.Chem. B. 2003. **107**. P. 838.
8. Sham Y. Y., Muegge I., Warshel A. // Proteins. 1999. **36**. P. 484.
9. Walden S. E., Wheeler R. A. // J.Phys.Chem. B. 2002. **106**. P. 3001.
10. Grigorenko B.L., Nemukhin A.V., Topol I.A., Burt S.K. // J. Phys. Chem. A. 2002. **106**. P. 10663.
11. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Topol I.A., Burt S.K. // J. Comp. Chem. 2003. **24**. P. 1410.
12. Stowel M.H., McPhillips T.M., Rees D.C., Soltis S.M., Abresch E., Feher G. // Science. 1997. **276**. P. 812.
13. Debus R.J., Feher G., Okamura M.Y. // Biochemistry. 1986. **25**. P. 2276.

Поступила в редакцию 09.01.05

MODELING THE MECHANISM OF THE PROTON TRANSFER – COUPLED ELECTRON TRANSFER REACTIONS IN THE BACTERIAL PHOTOSYNTHETIC REACTION CENTERS: QM/MM SIMULATIONS FOR THE ZINC-QUINONE COMPLEXES

I.V. Dolgova, B.L. Grigorenko, A.V. Nemukhin, Yang Sun, Xi-Cheng Ai, Qi-Yuan Zhang

(Division of Physical Chemistry)

The mechanism of the proton transfer – coupled electron transfer reactions in the bacterial photosynthetic reaction centers (BPRC) was studied by using the combined quantum mechanical – molecular mechanical (QM/MM) method. The molecular model was selected on the base of the experimental X-ray structure of the BPRC from *Rhodobacter sphaeroides* (PDB ID: 1AIG), in which the iron ion was replaced by zinc. The quantum part consisted of ubiquinone molecules, the metal ion, side chains of five aminoacid residues (four His and GluM234) coordinated by the metal and a side chain of SerL223. The molecular mechanical part included hundreds of atoms of the nearest environment of the metal site from the protein. Optimization of geometry parameters was carried out by using the Hartree–Fock methods in the QM part and the AMBER force field parameters in the MM part. It was shown that oxidation of this zinc-quinone complex led to the stable electronic structure with an additional electron localized on the primary quinone Q_A . Addition of the second electron led to the electronically unstable structures in both singlet and triplet states of the complex. The reasons of such effect were attributed to the presence of unprotonated negatively charged residues GluL212 and AspL213 near the secondary quinone Q_B . As a consequence, the protons from SerL223 and HisL190 cannot be transferred to Q_B unless GluL212 and AspL213 are protonated. These data are consistent with the most recent experimental studies (Xu et al., *Structure*, 12, 703, 2004) revealing the key role of protonation of GluL212 and AspL213 in the course of proton transfers. After protonation of AspL213 the position of the proton from SerL223 should favor reduction of Q_B .