

УДК 519.19

**АТОМНАЯ СТРУКТУРА ВЕРХНИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРБИТАЛЕЙ  
МАЛОГО ТЕТРА-ГЕМА ЦИТОХРОМА с 1M1P****А.В. Митин<sup>1,2,3</sup>**<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: mitin@phys.chem.msu.ru

<sup>2</sup>Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва, Россия<sup>3</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Московская обл., Россия

Статья поступила 4 июня 2015 г.

С доработки — 9 сентября 2015 г.

Атомная структура верхних молекулярных орбиталей (МО) малого тетра-гема цитохрома с (МТЦ) 1M1P была исследована в больших неэмпирических расчетах, выполненных методом Хартри—Фока с учетом всех электронов. Показано, что верхние МО МТЦ образованы главным образом атомными орбиталями атомов отрицательно заряженных аминокислот, определены соответствующие аминокислоты и их номера. Сделан вывод о том, что такие аминокислоты могут рассматриваться как возможные активные центры в реакции переноса электрона от МТЦ к внешнему акцептору электронов.

DOI: 10.15372/JSC20160401

**Ключевые слова:** неэмпирический расчет, приближение ЛКАО, метод Хартри—Фока, молекулярные орбитали, анализ заселенности.

**ВВЕДЕНИЕ**

Малый тетра-гема цитохром с был найден в периплазме грамотрицательной бактерии *Shewanella oneidensis* MR-1 [ 1 ]. Интерес к МТЦ определяется тем, что наряду с другими цитохромами он предположительно участвует в транспорте электронов через мембраны бактерии во внешнюю среду [ 2 ]. Появление электронов в бактериях *Shewanella oneidensis* и *Geobacter* наблюдается при расщеплении продуктов питания, а их вывод во внешнюю среду является необходимым условием их существования. В качестве акцепторов электронов при этом могут выступать минералы переходных металлов и оксиды актиноидов [ 3, 4 ]. На этом основано использование этих бактерий для биологической очистки грунтовых вод от соединений тяжелых металлов, когда их окисленные формы являются менее растворимыми, как, например, соединения U(VI) и U(IV) [ 5—7 ].

Координаты атомов окисленного и восстановленного МТЦ были определены в рентгеноструктурном эксперименте, показывающем, что МТЦ образован 91 аминокислотой и четырьмя гем-группами [ 8 ]. Это позволило смоделировать перенос электрона между МТЦ и поверхностью оксида железа, являющейся акцептором электронов в этой реакции [ 3 ]. В этой работе геометрии, соответствующие типичному присоединению МТЦ к поверхности оксида железа, были вначале определены методом молекулярной механики. Затем скорость переноса электрона между атомом железа в гем-группе МТЦ и атомом железа на поверхности оксида железа была оценена в неэмпирическом расчете связывающего матричного элемента  $V_{AB}$  с использованием известного метода [ 9 ].

Из теории электронной структуры молекул следует, что химическая активность МТЦ в реакции переноса электрона определяется верхними заполненными МО. Для больших молекул удобно определить реакционный центр как атом или группу атомов, атомные орбитали (АО) которых дают наибольший вклад в верхние заполненные МО. Тогда можно сказать, что активные центры МТЦ главным образом определяют кинетику реакции переноса электрона. Поэтому основное внимание в настоящей работе было уделено определению реакционных центров МТЦ.

Качественно можно заключить, что верхние занятые МО МТЦ образованы АО атомов порфиринового кольца и/или АО атомов аминокислот. Это следует из результатов работы [ 10 ], где было показано, что верхние занятые МО нейтрального комплекса металл—порфириновое кольцо, координированного двумя имидазольными группами  $[\text{MePIm}_2]$ , а также его катиона и двойного катиона образованы АО атомов углерода и азота порфиринового кольца.

В настоящей работе описано количественное исследование атомной орбитальной структуры верхних МО МТЦ и их пространственной локализации путем анализа молекулярных волновых функций, полученных в неэмпирических расчетах.

### БОЛЬШИЕ НЕЭМПИРИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ

Большие расчеты методом Хартри—Фока были выполнены для восстановленной и окисленной формы МТЦ. Экспериментальные структуры этих форм [ 8 ] нельзя прямо использовать в неэмпирическом расчете, потому что положения атомов водорода молекул воды не определяются в рентгеноструктурном эксперименте. Поэтому они подверглись обычному в таких случаях преобразованию, выполненному с помощью программы Румол [ 11 ]. В этих структурах были удалены атомы кислорода и добавлены атомы водорода для связывания открытых связей. Расчеты методом Хартри—Фока с учетом всех электронов были выполнены программой Molpack [ 12 ], эффективность которой была существенно улучшена путем сжатия данных [ 13—15 ]. Другое важное свойство этой программы — применение линейно масштабирующегося алгоритма вычисления матрицы Фока с использованием разности плотности. Орбитали атомов первого и второго ряда были представлены набором базисных функций 3-21SP [ 16, 17 ], а атомов железа — базисом 3-21G [ 18 ].

В первой группе расчеты методом Хартри—Фока с учетом всех электронов для восстановленной формы МТЦ были выполнены для аниона, трех- и пятикратного аниона, а во второй группе расчеты проводились для нейтральной молекулы, двойного и четырехкратного аниона. Общее число сгруппированных базисных функций в этих расчетах было около 8900. Расходимость простых самосогласованных итераций наблюдали во всех вычислениях. Для получения сходящихся решений применялся динамический метод сдвига уровней [ 19 ].

Полученные волновые функции исследовали методом малликеновского анализа заселенности [ 20, 21 ]. Сравнение заселенностей верхних МО различных молекул позволяет определить активные центры МТЦ.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНЫХ ЦЕНТРОВ МТЦ

Теоретические исследования орбитальной структуры верхних занятых МО больших молекул с гем-группами однодетерминантными методами должны избегать использования упорядочения орбиталей по орбитальным энергиям. С одной стороны, в методе Хартри—Фока не учитывается корреляционная энергия, поэтому заполненные МО могут располагаться в другом порядке по сравнению с методами теории функционала плотности (ТФП). С другой стороны, недавно было показано, что заполненные орбитали метода ТФП могут быть также некорректно упорядочены [ 10 ]. Эта проблема наблюдалась в комплексах  $[\text{MePIm}_2]$  с высокой плотностью орбитальных энергий. Молекула МТЦ образована 91 аминокислотой и четырьмя гем-группами, что указывает на высокую плотность орбитальных энергий МО в ней. Поэтому нельзя строго полагать, что заполненные МО МТЦ метода ТФП будут упорядочены корректно и что анализ их коэффициентов разложения по АО даст их правильную орбитальную структуру.

Т а б л и ц а 1

Малликеновские заряды аминокислот в восстановленной и окисленной формах МТЦ и гем-групп, рассчитанные методом Хартри—Фока с базисом 3-21SP/3-21G

№	Аминокислота	Восстановленный МТЦ			Окисленный МТЦ		
		МТЦ	МТЦ <sup>3-</sup>	МТЦ <sup>5-</sup>	МТЦ	МТЦ <sup>2-</sup>	МТЦ <sup>4-</sup>
2	ASP	-0,0185	-0,0241	-0,0312	0,0041	-0,0036	-0,0085
4	LYS	0,9416	0,9448	0,9422	0,9177	0,9255	0,9259
7	ASP	-0,7633	-0,8847	-0,8837	-0,6078	-0,8515	-0,8940
9	HIS	-0,7088	-0,7052	-0,7490	-0,5579	-0,5560	-0,5530
11	GLU	-0,0093	-0,2209	-0,5140	-0,0251	-0,0355	-0,0482
16	GLU	-0,4229	-0,6383	-0,9011	-0,2737	-0,5210	-0,8827
19	HIS	-0,4503	-0,4435	-0,4378	-0,4905	-0,4792	-0,4669
20	LYS	0,9920	0,9765	0,9660	1,0092	0,9951	0,9778
21	ASP	-0,6924	-0,8840	-0,9328	-0,5370	-0,7540	-0,9467
27	ASP	-0,5066	-0,7321	-0,9878	-0,5440	-0,7144	-0,9734
31	GLU	-0,7444	-0,7444	-0,7400	-0,6308	-0,7379	-0,7389
39	HIS	-0,7751	-0,7745	-0,8208	-0,6519	-0,6551	-0,6562
41	LYS	0,0016	-0,0039	-0,0105	0,0080	0,0029	-0,0025
44	GLU	-0,0346	-0,0443	-0,0483	-0,0453	-0,0555	-0,0649
46	ASP	-0,7458	-0,7469	-0,7459	-0,7439	-0,7454	-0,7473
49	HIS	-0,4637	-0,4626	-0,4681	-0,6722	-0,6718	-0,6729
50	LYS	0,9313	0,9318	0,9225	0,9216	0,9235	0,9193
52	HIS	-0,6595	-0,6515	-0,6754	-0,7042	-0,6913	-0,7025
53	ASP	-0,6205	-0,8323	-0,8391	-0,4356	-0,6921	-0,8498
60	ASP	-0,4259	-0,6853	-0,7773	-0,3457	-0,5483	-0,8098
62	HIS	-0,6303	-0,6272	-0,6172	-0,7724	-0,7698	-0,7697
65	HIS	-0,5525	-0,5536	-0,5606	-0,5484	-0,5490	-0,5557
66	ASP	-0,0742	-0,0792	-0,0859	-0,0725	-0,0788	-0,0821
72	LYS	0,9400	0,9350	0,9288	0,9697	0,9636	0,9579
76	GLU	-0,7423	-0,7457	-0,7538	-0,7305	-0,7339	-0,7395
79	HIS	-0,7317	-0,7416	-0,7653	-0,7574	-0,7666	-0,7820
80	ASP	-0,2907	-0,5856	-0,7573	-0,1984	-0,4752	-0,7812
81	ASP	-0,7759	-0,7889	-0,7983	-0,7747	-0,7868	-0,8003
83	ARG	0,8111	0,8145	0,8193	0,8548	0,8586	0,8643
90	LYS	0,9201	0,9154	0,9104	0,9281	0,9234	0,9180
91	LYS	0,9870	0,9877	0,9880	0,9774	0,9780	0,9790
I	Heme	0,9069	0,8930	0,8515	1,3357	1,3173	1,2967
III	Heme	1,1423	1,1188	0,8411	1,1677	1,1369	1,0757
IV	Heme	1,5997	1,5639	1,4461	1,2821	1,2778	1,2503
II	Heme	0,4850	0,5113	0,4113	0,3807	0,3844	0,3263

Возможный подход без явного использования принципа заполнения орбиталей для их упорядочивания был описан в работе [10], где было показано, что качественно атомная структура верхних заполненных МО может быть определена путем малликеновского анализа заселенности [20, 21] и анализа заселенности метода натуральных связевых орбиталей [22—25] к волновым функциям метода Хартри—Фока и ТФП. Важно при этом, что получаемая орбитальная структура верхних МО не зависит от типа волновой функции и метода определения заселенности.

Т а б л и ц а 2

Суммы малликеновских зарядов положительно ( $Q^+$ ) и отрицательно ( $Q^-$ ) заряженных аминокислот, а также атомов железа в восстановленной и окисленной формах МТЦ, рассчитанные методом Хартри—Фока с базисом 3-21SP/3-21G

№		Восстановленный МТЦ			Окисленный МТЦ		
		МТЦ <sup>-</sup>	МТЦ <sup>3-</sup>	МТЦ <sup>5-</sup>	МТЦ	МТЦ <sup>2-</sup>	МТЦ <sup>4-</sup>
$Q^+$		1,5527	1,5422	1,3725	1,4316	1,4320	1,3810
$Q^-$		-6,8673	-8,6365	-9,7966	-5,9609	-7,7340	-9,3671
I	Heme	2,3374	2,3369	2,3364	2,3545	2,3537	2,3529
III	Heme	2,1653	2,1725	2,0911	2,3603	2,3601	2,3599
IV	Heme	2,3372	2,3370	2,3385	2,0357	2,0339	2,0322
II	Heme	2,1099	2,1186	2,0886	2,0562	2,0726	2,0665

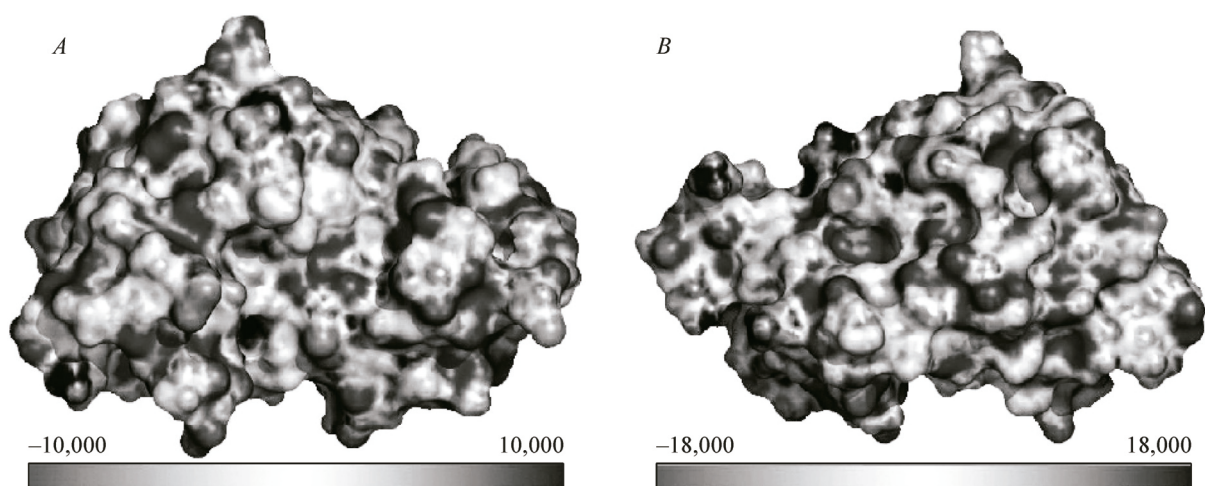
В нынешней работе применен этот подход. Качественно атомная структура верхних заполненных орбиталей МТЦ в восстановленной и окисленной формах была определена путем анализа рассчитанных хартри-фоковских волновых функций с использованием малликеновских частичных зарядов аминокислот. Частичные заряды аминокислот, введенные в [26], определяются как сумма частичных зарядов всех атомов аминокислот. Эта величина является естественным обобщением частичных зарядов атомов в молекуле, которая значительно упрощает качественный анализ молекулярных волновых функций.

Малликеновские частичные заряды аминокислот, рассчитанные с хартри-фоковскими волновыми функциями для обеих форм МТЦ, и частичные заряды гем-групп представлены в табл. 1. Частичные заряды нейтральных аминокислот близки к нулю, поэтому они неважны для настоящего анализа и не представлены в таблице. Полные суммы всех положительно и отрицательно заряженных аминокислот в нейтральной МТЦ и его анионах восстановленной и окисленной форм МТЦ, включая также заряды атомов железа гем-групп, даны в табл. 2.

Анализ частичных зарядов аминокислот, представленных в табл. 1 и 2, показывает, что добавление двух и четырех электронов как к восстановленным, так и окисленным формам МТЦ приводит к увеличению зарядов главным образом отрицательно заряженных аминокислот, тогда как заряды положительно заряженных аминокислот меняются незначительно. Частичные заряды атомов железа практически не меняются, а положительные заряды гем-групп незначительно уменьшаются. Отсюда можно заключить, что верхние МО МТЦ образованы в основном АО атомов отрицательно заряженных аминокислот, а вклад АО атомов гем-групп, включая АО атомов железа, незначителен.

Сравнение зарядов аминокислот, например в окисленной форме МТЦ, и ее двойного и четверного аниона показывает, что дополнительные заряды локализуются не на одной отрицательно заряженной аминокислоте, а распределены по нескольким из них. Наибольшие изменения зарядов в восстановленной форме МТЦ наблюдаются для глутаминовой кислоты с номерами 11, 16 и для аспарагиновой кислоты с номерами 7, 21, 27, 53, 60 и 80. Для окисленной формы МТЦ наибольшее изменение зарядов наблюдается для глутаминовой кислоты с номерами 16, 31 и для аспарагиновой кислоты с номерами 7, 21, 27, 53, 60 и 80. Отсюда следуют два важных вывода. Первый вывод состоит в том, что аминокислоты с наибольшим изменением заряда являются наиболее вероятными центрами в реакции переноса электрона между МТЦ и внешними акцепторами электронов, а второй — что атомы железа гем-групп не активны в такой реакции.

Важно отметить, что добавление электронов к МТЦ не изменяет соотношение между числом положительно и отрицательно заряженных аминокислот. Это хорошо демонстрируют электростатические потенциалы, рассчитанные для всех исследованных молекул использованием программы VMD [27], которые затем были спроектированы с помощью программы RuMOL



Электростатический потенциал (*A* — спереди и *B* — сзади) нейтральной окисленной формы МТЦ, рассчитанный с хартри-фоковской волновой функцией

[ 11 ] на молекулярную поверхность с учетом величины потенциала. Поскольку полученные рисунки аналогичны, на рисунке представлен только электростатический потенциал нейтральной окисленной формы МТЦ.

#### ВЫВОДЫ

В настоящей работе показано, что верхние заполненные МО МТЦ образованы главным образом АО атомов отрицательно заряженных аминокислот, тогда как вклад АО атомов гем-групп, включая АО атомов железа, незначителен. Этот результат соответствует неэмпирическому исследованию комплекса [MePIm<sub>2</sub>] [ 10 ], где было показано, что верхние МО этих комплексов образованы АО атомов порфиринового кольца. Поэтому можно ожидать, что верхние заполненные МО гем-цитохромов образуются в основном АО атомов порфиринового кольца и/или АО атомов отрицательно заряженных аминокислот.

Малликеновский анализ заселенности, полученный с волновыми функциями МТЦ, показывает, что гем-группы всегда положительно заряжены, их заряды меняются незначительно при изменении заряда МТЦ, т.е. гем-группы являются донорами электронов. Полученный результат прямо согласуется с общепризнанной концепцией химической связи в биомолекулах с гем-группами [ 28 ].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта № 14-03-00612).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tsapin A.I., Vandenberghe I., Neelson K.H. et al. // *Appl. Env. Microbiol.* – 2001. – **67**, N 7. – P. 3236.
2. Beliaev A.S., Klingeman D.M., Klappenbach J.A. et al. // *J. Bacteriology.* – 2005. – **187**, N 20. – P. 7138.
3. Kerisit S., Rosso K.M., Dupuis M. et al. // *J. Phys. Chem. C.* – 2007. – **111**, N 30. – P. 11363.
4. Biju V., Pan D., Gorby Y.A. et al. // *Langmuir.* – 2007. – **23**, N 3. – P. 1333.
5. Lovley D.R. // *Adv. Agr.* – 1995. – **54**. – P. 175.
6. Anderson R.T., Vrionis H.A., Ortiz-Bernad I. et al. // *Appl. Env. Microbiol.* – 2003. – **69**, N 10. – P. 5884.
7. Ortiz-Bernad I., Anderson R.T., Vrionis H.A. et al. // *Appl. Env. Microbiol.* – 2004. – **70**, N 12. – P. 7558.
8. Leys D., Meyer T.E., Tsapin A.I. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, N 38. – P. 35703.
9. Farazdel A., Dupuis M., Clementi E. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1990. – **112**, N 11. – P. 4206.
10. Mitin A.V., Kubicki J.D., Merz Jr. K.M. // *Int. J. Quantum Chem.* – 2011. – **111**, N 14. – P. 3630.
11. DeLano W.L. The PyMOL Molecular Graphics System. – DeLano Scientific LLC, San Carlos, CA, USA.
12. Mitin A.V. // *J. Comput. Chem.* – 1998. – **19**, N 16. – P. 1877.
13. Mitin A.V. // *J. Mol. Struct. (Theochem).* – 2002. – **592**. – P. 115.



14. *Mitin A.V., Baker J., Wolinski K. et al.* // J. Comput. Chem. – 2003. – **24**, N 2. – P. 154.
15. *Mitin A.V.* // Russ. J. Phys. Chem. A. – 2010. – **84**, N 5. – P. 812.
16. *Mitin A.V., Hirsch G., Buenker R.J.* // Chem. Phys. Lett. – 1996. – **259**, N 1, 2. – P. 151.
17. *Mitin A.V., Hirsch G., Buenker R.J.* // J. Comput. Chem. – 1997. – **18**, N 9. – P. 1200.
18. *Dobbs K.D., Hahre W.J.* // J. Comput. Chem. – 1987. – **8**, N 6. – P. 861.
19. *Mitin A.V.* // J. Comput. Chem. – 1988. – **9**, N 2. – P. 107.
20. *Mulliken R.S.* // J. Chem. Phys. – 1955. – **23**, N 10. – P. 1833.
21. *Mulliken R.S.* // J. Chem. Phys. – 1955. – **23**, N 10. – P. 1841.
22. *Carpenter J.E., Weinhold F.* // J. Mol. Struct. (Theochem). – 1988. – **169**. – P. 41.
23. *Foster J.P., Weinhold F.* // J. Am. Chem. Soc. – 1980. – **102**, N 24. – P. 7211.
24. *Reed A.E., Weinhold F.* // J. Chem. Phys. – 1983. – **78**, N 6. – P. 4066.
25. *Reed A.E., Weinstock R.B., Weinhold F.* // J. Chem. Phys. – 1985. – **83**, N 2. – P. 735.
26. *Митин А.В.* // Письма в ЖЭТФ. – 2010. – **92**, № 5. – С. 398.
27. *Humphrey W., Dalke A., Schulten K.* // J. Mol. Graphics. – 1996. – **14**, N 1. – P. 33.
28. *Mathews C.K., van Holde K.E.* Biochemistry. – The Benjamin / Cummings Publishing Company, Menlo Park, 1996.