

УДК 539.196

МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ КАЛЬЦИЯ В СВЕТОСОБИРАЮЩЕМ КОМПЛЕКСЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ЦЕНТРА БАКТЕРИЙ *Thermochromatium tepidum*

Б.Л. Григоренко, А.В. Немухин, Ж.-П. Жан*, П. Ванг*

(кафедра физической химии; e-mail: bell_grig@yahoo.com)

На основании первичной последовательности аминокислотных остатков α - и β -полипептидных спиралей светособирающего комплекса LH1 фотосинтетического центра бактерий *Thermochromatium tepidum* построена трехмерная структурная модель субъединицы и предложено специфическое место связывания ионов кальция.

Ключевые слова: фотосинтез, светособирающие комплексы, трехмерные модели полипептидов, молекулярная механика.

Светособирающие комплексы – важные компоненты фотосинтетических систем растений и бактерий, ответственные за поглощение видимого света и передачу электронного возбуждения на реакционные центры. Первичные последовательности полипептидных цепей, окружающих кофакторы – молекулы хлорофиллов (или бактериохлорофиллов) и каротиноидов, известны, однако получение трехмерной структуры с атомарным разрешением, особенно для комплексов типа LH1, достаточно сложно из-за трудностей экспериментального исследования трансмембранных белков. Рентгено-структурные данные с приемлемым разрешением 2,0–2,5 Å известны для светособирающих комплексов типа LH2 из пурпурных бактерий *Rhodospseudomonas acidophila* [1–3] или *Rhodospirillum molischianum* [4], в то время как структуры, полученные с разрешением 4,8 Å, для комплексов типа LH1 [5] позволяют анализировать лишь общие детали. Согласно результатам [5], комплекс LH1 состоит из 15 или 16 субъединиц, т.е. пар α - и β -полипептидных спиралей, между которыми заключены димеры молекул бактериохлорофилла (BChl-a).

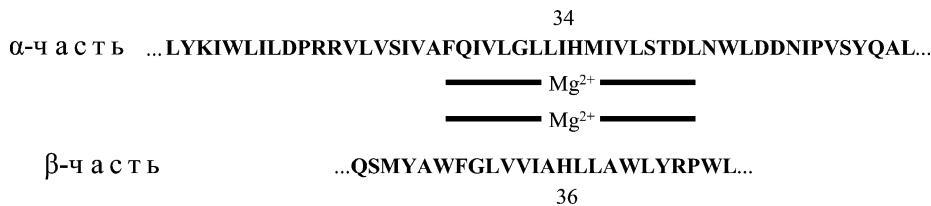
Интерес к структуре комплекса LH1 пурпурных бактерий вызван особенностями свойств фотосинтетической термофильной бактерии *Thermochromatium tepidum* [6], которая может выдерживать экстремально высокие температуры вплоть до 58°C. Выделенный вместе с реакционным центром (RC) светособирающий комплекс LH1 также оказался достаточно термостабильным [7]. Спектральные исследования LH1-RC показали, что этот комплекс характеризуется

необычным красным сдвигом полосы поглощения перехода Q_y BChl-a от типичных значений 885 нм до 915 нм [7–9]. Было показано, что и повышенная термостабильность, и наличие длинноволновой полосы поглощения при 915 нм полностью зависят от присутствия ионов кальция в комплексе [10, 11], причем на каждую субъединицу комплекса LH1 приходится один ион Ca^{2+} .

Поскольку трехмерная атомарная структура α - и β -полипептидов с включенными димерами бактериохлорофилла для комплекса LH1 из *Thermochromatium tepidum* экспериментально не известна, то в работе [9] была предпринята попытка восстановить структуру субъединицы по шаблону методами молекулярного моделирования на основе процедур SWISS-MODEL и MODELER. Для этого известная первичная последовательность аминокислотных остатков α - и β -полипептидов LH1 из *Thermochromatium tepidum* [7] была выравнена по последовательностям α - и β -полипептидов комплекса LH2 из *Rhodospseudomonas acidophila* [2] с известной кристаллографической структурой. По результатам анализа построенной модели было высказано предположение, что ионы Ca^{2+} связываются на С-конце α -спирали [9].

Последнее утверждение не свободно от недостатков. Предполагаемое в работе [9] место связывания Ca^{2+} находится на расстоянии более 22 Å от ближайшего центра порфиринового кольца бактериохлорофилла, и трудно ожидать при столь отдаленном возмущении существенного сдвига в 30 нм для полосы поглощения BChl. Кроме того, не ясно, почему пред-

*Народный университет Китая, Пекин; e-mail: jpzhang@chem.ruc.edu.cn.

Рис. 1. Структура субъединицы комплекса LH1 из *Thermochromatium tepidum*

полагаемое место связывания иона металла (в основном, посредством заряженных аминокислотных остатков Asp) специфично по кальцию – любой ион металла (Na⁺, Mg²⁺), рассматриваемый в экспериментальных работах [7–11], должен также легко связываться на данном сайте и также оказывать влияние на спектр димера бактериохлорофилла, однако этого не наблюдается.

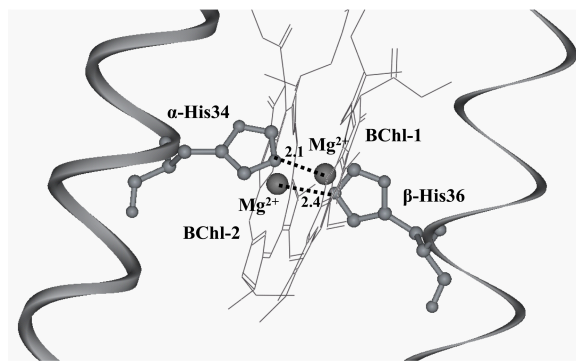
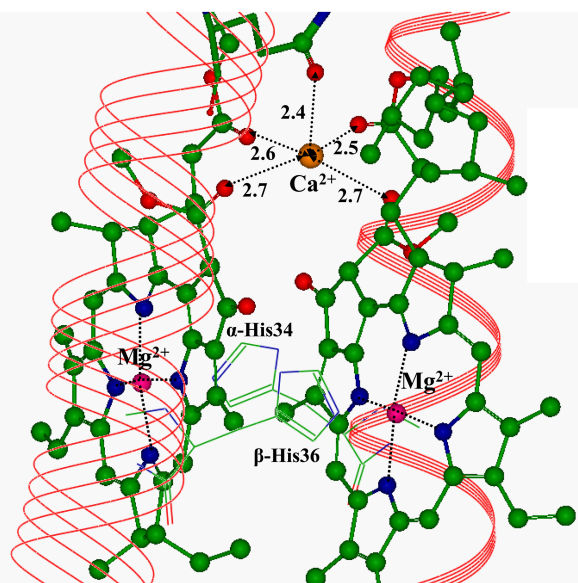
В данной работе мы предлагаем другую модель трехмерной структуры субъединицы комплекса LH1 из *Thermochromatium tepidum* и другое место локализации ионов кальция в данной структуре.

На рис. 1 схематично показана структура моделируемой субъединицы. Аминокислотный состав α - и β -полипептидов записан по данным первичных последовательностей, приведенным в работе [2]. Аминокислотные остатки His по позиции 34 в α -пептиде и 36 в β -пептиде координируют через атомы N ϵ ионы магния, располагающиеся в центрах порфириновых колец молекул бактериохлорофилла.

В качестве шаблона мы использовали структуру соответствующего фрагмента, включающего α - и β -полипептиды, димер BChl-a, еще одну молекулу BChl-a и молекулу каротиноида, из комплекса LH2 бактерии *Rhodospseudomonas acidophila* [3], приведенную в базе данных белковых структур с кодом PDBid: 2FKW. Далее структурные фрагменты были выравнены по позициям остатков His в обоих полипептидах. Замена каждого аминокислотного остатка была проведена вручную в обе стороны от позиции выравнивания так, чтобы, сохранив форму спиралей, восстановить состав, показанный на рис. 1. На каждом шаге точечных мутаций проводилась частичная оптимизация геометрических параметров методами молекулярной механики с отслеживанием сеток водородных связей. На рис. 2 изображен фрагмент модельной системы в окрестности ключевых аминокислотных остатков α -His34 и β -His36. Атомы азота N ϵ остатков гистидина связаны координационными связями с расстояниями 2,1 и 2,4 Å с магниевыми центрами порфириновых колец молекул бактериохлорофилла, причем остаток α -His34 связан с молекулой BChl-a,

ближайшей к β -спирали, а остаток β -His36 – с молекулой BChl-a, ближайшей к α -спирали.

Важным результатом, полученным из анализа построенной модельной трехмерной системы, является наличие подходящей полости для иона кальция в непосредственной близости от молекул бактериохлоро-

Рис. 2. Фрагмент структуры субъединицы комплекса LH1 из *Thermochromatium tepidum*. Для наглядности показаны только тяжелые атомы (расстояния указаны в ангстремах)Рис. 3. Предполагаемое место связывания иона кальция в структуре субъединицы комплекса LH1 из *Thermochromatium tepidum*. Для наглядности показаны только тяжелые атомы (расстояния указаны в ангстремах)

филла (рис. 3). Ион металла может быть координирован четырьмя кислородными атомами карбонильных групп молекул BChl-a, а пятую координационную связь предоставляет атом кислорода карбонильной группы остатка α -Gln26 одной из полипептидных спиралей. На рис. 3 показаны примерные расстояния от предполагаемой позиции иона Ca^{2+} до координирующих его атомов кислорода. Известно, что координационная сфера кальция принципиально может содержать пять лигандов [12], в отличие от магния или натрия. Близкое расположение иона металла к хромофорным молекулам вполне может приводить к заметному сдвигу в положении полосы поглощения. Предварительные оценки методами квантовой химии согласуются с направлением этого сдвига в сторону

более длинных волн. Данная позиция иона металла равно отстоит от обеих полипептидных спиралей и вполне может объяснять возрастание термостабильности комплекса при связывании кальция.

Для подтверждения данных результатов моделирования необходимо выполнить дополнительные расчеты структурных характеристик модельного комплекса методами молекулярной динамики, в частности, следуя работе [13], а также более дорогостоящие расчеты полос в оптических спектрах поглощения методами квантовой химии и комбинированными методами квантовой и молекулярной механики. Более отдаленные перспективы связаны с симуляцией процессов переноса энергии при возбуждении светособирающего комплекса [14].

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 08-03-92203-ГФЕН-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McDermott G., Prince S.M., Freer A.A. et al. // Nature. 1995. **374**. P. 517.
2. Papiz M. Z., Prince S. M., Howard T., et al. // J. Mol. Biol. 2003. **326**. P. 1523.
3. Cherezov V., Clogston J., Papiz M.Z., Caffrey M. // J. Mol. Biol. 2006. **357**. P. 1605.
4. Koepke J., Hu X., Muenke C. et al. // Structure. 1996. **4**. P. 581.
5. Roszak A.W., Howard T.D., Southhal J., et al. // Science. 2003. **302**. P. 1969.
6. Madigan M. T. // Science. 1984. **225**. P. 313.
7. Suzuki H., Hirano Y., Kimura Y. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2007. **1767**. P. 1057.
8. Ma F., Kimura Y., Zhao X.-H. et al. // Biophys. J. 2008. **95**. P. 3349.
9. Ma F., Kimura Y., Yu L.-J., et al. // FEBS J. 2009. **276**. P.1739.
10. Kimura Y., Hirano Y., Yu L.-J. et al. // J. Biol. Chem. 2008. **283**. P. 13867.
11. Kimura Y., Yu L.-J., Hirano Y. et al. // J. Biol. Chem. 2009. **284**. P. 93.
12. Vysotski E.S., Lee J. // Acc. Chem. Rev. 2004. **37**. P. 405.
13. Hu X., Schulten K. // Biophys. J. 1998. **75**. P. 683.
14. Белов А.С., Еремич В.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. 2009. **50**. С. 219.

Поступила в редакцию 02.02.10

MODELING CALCIUM BINDING AT THE LIGHT HARVESTING COMPLEX OF THE BACTERIAL PHOTOSYNTHETIC CENTER OF *Thermochromatium tepidum*

B.L. Grigorenko, A.V. Nemukhin, J.-P. Zhang, P. Wang

(Division of Physical Chemistry)

By using the sequence of amino acid residues of the α - and β - polypeptide helices from the light harvesting complex LH1 of the bacterial photosynthetic center of *Thermochromatium tepidum* the three-dimensional structural model of the subunit was constructed and the specific binding site of calcium ions was proposed.

Key words: photosynthesis, light harvesting complexes, three dimensional polypeptide models, molecular mechanics.

Сведения об авторах: Григоренко Белла Людвиговна – ст. науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ, докт. физ.-матем. наук (bell_grig@yahoo.com); Немухин Александр Владимирович – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ, лаборатория химической кибернетики; докт. хим. наук (anemukhin@yahoo.com); Жан Жуан-Пинг (Zhang Jian-Ping) – профессор химического факультета Народного университета Китая (jzhang@chem.ruc.edu.cn); Ванг Пен (Wang Peng) – профессор химического факультета Народного университета Китая (wpeng@chem.ruc.edu.cn).