

ABEEM/MM 浮动电荷力场应用于 血红素结构的研究

崔宝秋^{1,2}, 管清梅¹, 宫利东¹, 赵东霞¹, 杨忠志¹

(1. 辽宁师范大学化学化工学院, 大连 116029; 2. 锦州师范高等专科学校化学系, 锦州 121000)

摘要 运用拟合的参数, 应用 ABEEM/MM 浮动电荷力场对血红素分子结构进行了模拟. 结果表明, 该力场与 CHARMM 力场相比, 能更好地模拟晶体结构. 计算的 ruffling 构象能与 B3LYP/6-31G* 计算结果的线性相关系数在 0.98 以上, 同时表明血红素分子中 twist-angle 对 ruffling 构象具有明显影响. ABEEM/MM 力场计算的细胞色素 c₅₅₂ 中血红素分子的电荷分布与 CHARMM 固定电荷力场的比较, 更准确地反映了血红素分子的电荷分布以及极化现象.

关键词 ABEEM/MM 力场; 血红素; 几何结构; 构象能; 电荷分布

中图分类号 O641

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)03-0585-06

血红素分子在血红素蛋白中具有重要作用, 其活性功能不仅与其特殊的结构有关, 而且还与其电荷分布密切地联系在一起, 如在细胞色素 c 中, 血红素分子通过活性中心 Fe(II) 和 Fe(III) 之间的相互转化, 在两个膜蛋白中起传递电子的作用. 虽然采用 MM2, AMBER 和 CHARMM 等力场对卟啉系列分子已做了大量的研究^[1~4], 但均采用固定电荷力场模型, 这对于容易极化的原子处理是不理想的, 同时血红素分子在蛋白质中的扭曲构象也很难反映出电荷变化. 尽管一些力场在电荷参数等方面不断改进, 如 Autenrieth 等^[5]通过密度泛函方法重新标定了 CHARMM 力场关于细胞色素 c 中血红素的电荷参数, Oda 等^[6]通过量子化学计算建立了细胞色素 P450s 中铁卟啉的 AMBER 力场参数, 但对于分子中极化电荷的处理仍有局限性, 因为固定电荷力场无法具体计算出血红素分子与周围蛋白质相互作用的电荷变化. 而这种变化对于模拟体系的结构和能量都会带来重要的影响. 基于密度泛函理论和电负性均衡原理发展起来的原子-键电负性均衡方法 (ABEEM)^[7~12], 较好地考虑了原子和化学键随化学环境的变化而改变的事实. 在此基础上, Yang 等^[13,14]将原子-键电负性均衡方法融合分子力场建立了 ABEEM/MM 浮动电荷力场. 目前该力场不仅对金属离子、卤素离子的水溶液进行了动力学模拟^[15~18], 而且也可以应用到烷烃、多肽以及小蛋白质的研究中^[19~22].

本文利用蛋白质晶体结构数据库 (PDB) 中的晶体结构与量子化学计算, 拟合了血红素分子的 ABEEM/MM 力场参数. 对 ABEEM/MM 力场模拟的血红素分子结构、扭曲形变构象能以及电荷分布等进行分析, 有利于探索血红素分子在血红素蛋白中的重要作用.

1 ABEEM/MM 浮动电荷力场与参数

1.1 ABEEM/MM 浮动电荷力场与模拟方法

在 ABEEM/MM 浮动电荷力场中, 血红素分子的势能函数由键伸缩、键角弯曲、二面角扭转势能、静电库仑势能和 Lennard-Jones 势能项等组成, 即:

$$E_{\text{ABEEM/MM}} = \sum_{\text{bond}} k_b (r - r_{\text{eq}})^2 + \sum_{\text{angle}} k_\theta (\theta - \theta_{\text{eq}})^2 + \sum_{\text{torsion}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\varphi - \gamma)] +$$

收稿日期: 2007-02-09.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 20633050, 20403007) 资助.

联系人简介: 杨忠志, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事理论与计算化学研究. E-mail: zzyang@lnnu.edu.cn

$$\sum_{\text{elec}} [k_{ij}(\frac{q_i q_j}{r_{ij}})] + \sum_{\text{vdw}} \{4f_{ij}\epsilon_{ij}[(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}})^{12} - (\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}})^6]\} \quad (1)$$

式中, k_b 和 k_θ 、 r 和 θ 、 r_{eq} 和 θ_{eq} 分别表示键伸缩和键角弯曲势能的力常数、实际的键长和键角、平衡态键长和键角; $V_n/2$ 表示二面角扭转势能项的展开力常数, φ 、 n 和 γ 分别为二面角实际值、周期值和相角. 其中库仑静电势能项中的 q_i 和 q_j 是通过 ABEEM 方法得到的, Lennard-Jones 势能项中原子对 i 和 j 的势能参数等于两个原子势能参数的几何平均. 有关库仑静电势能项和 Lennard-Jones 势能项前的系数 k_{ij} 和 f_{ij} 的详细阐述请参阅文献[19,20].

从 PDB 中获取晶体结构, 本文研究的血红素分子骨架结构以及在 ABEEM/MM 浮动电荷力场中的原子类型参见图 1. 采用拟合的参数在改进的 Tinker 程序中通过共轭梯度方法进行能量最小化, 共轭梯度小于 $0.418 \text{ kJ}/(\text{mol} \cdot \text{nm})$. 细胞色素 c 中的水分子采用 ABEEM/MM-TIP-7P 水模型势能函数来描述^[13,14].

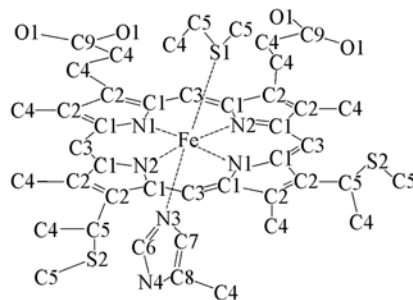


Fig. 1 Configuration of the heme prosthetic group

1.2 拟合 ABEEM/MM 参数

ABEEM/MM 参数中的键伸缩和弯曲势能参数取自文献[23], 但铁与轴配体蛋氨酸中硫形成的 Fe—S 键长取晶体的平均值. 计算 PDB 中还还原态晶体 [PDB code: 1YTC (0.180 nm), 1CXC (0.160 nm), 1QL3 (0.140 nm), 1QN2 (0.201 nm), 5CYT (0.150 nm), 1HRO (0.220 nm), 1YCC (0.123 nm), 1CIE (0.180 nm), 1CIF (0.190 nm), 1CIG (0.180 nm), 1CIH (0.180 nm)] 的平均键长为 0.233 nm, 氧化态晶体 [PDB code: 1CCR (0.150 nm), 1CC5 (0.150 nm), 2YCC (0.190 nm), 1QL4 (0.150 nm), 1HRC (0.190 nm), 1CYT (0.180 nm), 351C (0.160 nm), 1C52 (0.128 nm)] 的平均键长为 0.234 nm. (PDB 代码括号内为分辨率).

本文中 Fe—S 键长在氧化和还原态中都取 0.233 nm. ABEEM 参数则通过选择金属卟啉为模型分子, 采用 B3LYP/6-31G* 方法通过 Mulliken 布居分析获取电荷, 利用最小二乘法拟合价态电负性 (χ^*) 和价态硬度 ($2\eta^*$). 在血红素分子中容易发生构象变化的是与铁离子轴配位的组氨酸中的咪唑基和蛋氨酸中的 1 甲基 1 乙基硫醚.

采用 B3LYP/6-31G* 方法拟合了与化学键 Fe—S1 和 Fe—N3 相关的二面角扭转势能参数. 拟合与 Fe—S1 相关的二面角扭转势能参数时, 保持卟啉环和咪唑基配体不动仅优化 1 甲基 1 乙基硫醚基团^[5]. 用同样方法拟合了与 Fe—N3 相关的参数. 卟啉中的二面角扭转势能参数通过卟啉的形变构象能进行调整^[19,20].

表 1 和表 2 分别列出了血红素分子的 ABEEM 参数和二面角扭转势能参数. Lennard-Jones 势能参数 (ϵ 和 σ) 以及其它参数均取自文献[19,20].

Table 1 ABEEM parameters (χ^* , $2\eta^*$) (Pauling unit)

Atom	χ^*	$2\eta^*$	Atom	χ^*	$2\eta^*$	Atom	χ^*	$2\eta^*$	Atom or Bond	χ^*	$2\eta^*$
C1	2.34	5.55	C6	2.50	4.59	N3	4.55	6.50	C5	2.50	13.02
C2	2.50	7.00	C7	2.50	10.38	N4	4.29	14.02	C5—S1	5.51	29.82
C3	3.70	5.00	C8	2.50	4.38	S1	2.40	3.40	Fe—S1	5.21	65.00
N1(2)	4.55	4.68	Fe ²⁺	7.86	3.40	S2	4.00	3.00	Fe—N1(2)	3.50	15.94
O1	6.50	6.40	Fe ³⁺	11.50	3.60	C9	2.56	5.67	Fe—N3	3.50	15.94

Table 2 Torsional parameters

Dihedral	X—Fe—S1—X	X—Fe—N3—X	X—N1(2)—C1—X	X—C1—C2—X	X—C3—C2—X	X—C2—C2—X
Force constant/ (kJ·mol ⁻¹)	0.17	0.21	33.47	25.10	31.38	36.61
Periodicity of torsion	4	4	2	2	2	2
Phase offset/(°)	0.00	0.00	180.00	180.00	180.00	180.00

2 结果与讨论

2.1 几何结构

采用均方根偏差(RMSD)比较了晶体与 ABEEM/MM 力场优化后的结构. 还原态血红素分子中的键长与键角相对于晶体(PDB code 1CXC)的 RMSD 分别为 0.0023 nm 和 2.91°, 氧化态血红素分子中的键长与键角相对于晶体(PDB code 2YCC)的 RMSD 分别为 0.0024 nm 和 3.20°.

表 3 列出了 ABEEM/MM 力场模拟优化结构与晶体的原子位移 RMSD. 该表中 RMSD 与键长、键角相对于晶体的 RMSD 都表明, ABEEM/MM 力场模拟的结构与晶体结构符合, 同时表 3 中数据也表明血红素分子的核心结构比其侧链更加稳定.

Table 3 RMSD (nm) for geometry optimization and X-ray structures

PDB	Heavy atom	Core atom(N1, N2, C1, C2, C3, Fe, S1, N3)	Side Chains atoms(C4, C5, C6, O1, C7, C8, N4, C9, S2)
1CXC	0.0274	0.0161	0.0306
2YCC	0.0360	0.0118	0.0406

表 4 具体比较了晶体、ABEEM/MM 力场优化以及量子化学优化^[5]后的主要键长、键角以及二面角. 由于 CHARMM 力场在血红素方面的应用^[24-27], 表 4 也列出了该力场的模拟结果^[15]. 从表 4 可知, 采用 ABEEM/MM 力场与 CHARMM 力场、量子化学计算等方法同样模拟了晶体的键长与键角, 但在 Fe—S1 键和二面角上, ABEEM/MM 力场优化的结果更接近于晶体, 而其它方法则有一定差距.

Table 4 Some bond lengths (nm), bond angles(°) and dihedral(°) of the heme structures after optimization and X-ray structure

Bond	Reduced(PDB code 1CXC)				Oxidized(PDB code 2YCC)			
	X-ray	ABEEM/MM	CHARMM	QM	X-ray	ABEEM/MM	CHARMM	QM
Fe—N1(2)	0.197	0.198	0.196	0.201	0.202	0.198	0.195	0.200
N1(2)—C1	0.139	0.138	0.136	0.138	0.138	0.138	0.136	0.138
C1—C2	0.145	0.145	0.146	0.145	0.146	0.145	0.146	0.144
C2—C2	0.135	0.133	0.136	0.136	0.133	0.136	0.136	0.136
C1—C3	0.138	0.138	0.136	0.139	0.138	0.138	0.136	0.139
N3—C6	0.130	0.133	0.131	0.132	0.139	0.140	0.139	0.138
N3—C7	0.138	0.140	0.135	0.137	0.137	0.133	0.135	0.136
N4—C6	0.140	0.134	0.137	0.138	0.135	0.134	0.137	0.138
N4—C8	0.135	0.138	0.136	0.136	0.133	0.138	0.136	0.135
C7—C8	0.138	0.137	0.135	0.137	0.136	0.137	0.131	0.133
Fe—N3	0.202	0.200	0.195	0.199	0.201	0.200	0.192	0.197
Fe—S1	0.236	0.238	0.250	0.244	0.243	0.238	0.250	0.247
S—C5	0.182	0.182	0.183	0.182	0.184	0.182	0.183	0.182
C2—C3—C2	125	125	127	125	126	125	127	125
N3—Fe—N2	90	90	90	90	90	87	90	90
N2—Fe—N1	179	170	170	179	176	174	170	177
C7—N3—C6	104	104	105	106	104	104	105	107
C8—C7—N3	109	109	111	110	111	109	111	109
N3—C6—N4	113	113	112	110	110	113	112	110
N2—Fe—S	91	92	95	92	90	95	95	89
N2—Fe—N3	90	95	85	90	90	85	85	91
N3—Fe—S	178	178	178	175	170	177	179	174
C5—S—C5	99	99	94	99	94	98	94	100
N2—Fe—S—C5	-35	-36	-31	-11	-36	-45	-33	-10
N2—Fe—N3—C7	51	42	48	44	65	44	43	46

应用拟合的参数研究了血红素分子在细胞色素 c_{552} (PDB code 1QL3)^[28]中的构象. 优化的细胞色素 c_{552} 中重原子笛卡儿坐标相对于 X 射线衍射数据的 RMSD 为 0.0396 nm, 其中血红素分子的 RMSD 为 0.0222 nm. 图 2 显示了细胞色素 c_{552} 中血红素分子和相关残基、结构水分子的晶体初始结构和模拟优化后的构象, 其中血红素分子构象的变化主要来自其侧链丙酸基原子与周围蛋白质氨基酸等的相互

作用. RMSD 表明, ABEEM/MM 力场较好地模拟了晶体结构, 新拟合的参数在蛋白质体系中的运用是令人满意的.

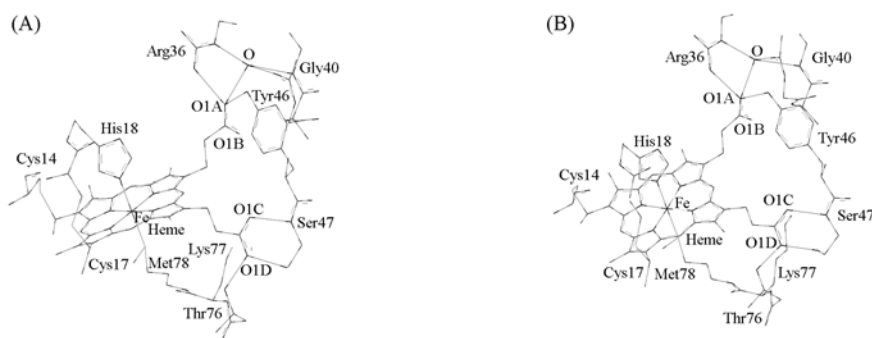


Fig. 2 Conformations of the heme group, some residues and order water from PDB(A) and optimization (B)

2.2 Ruffing 构象能

细胞色素 c 中卟啉呈扭曲的 ruffing 构象, 常用 twist-angle 进行表征. 图 3 给出了 ruffing 构象的立体结构以及 twist-angle (τ_{AC} 和 τ_{BD}) 的定义. 采用 ABEEM/MM 力场和 B3LYP/6-31G* 方法计算了 PDB 中血红素分子的 ruffing 构象能.

图 4 为两种方法计算结果的比较, 图 4 中的相关系数超过 0.98 表明两种方法结果一致, 这说明 ABEEM/MM 力场是合理的. 表 5 为两种方法计算的血红素分子的 ruffing 构象能, 同时表 5 也表明, 血红素的 ruffing 程度对 ruffing 构象能的影响. 一方面, τ_{AC} 和 τ_{BD} 的绝对值差越大, 血红素的 ruffing 构象能越高; 另一方面, twist-angle 中任何一个弯曲角度特别大, 血红素的 ruffing 构象能也越高. 可见 twist-angle 对血红素的扭曲 ruffing 构象能的影响明显, 这也表明血红素分子与周围蛋白质中氨基酸的相互作用十分强烈.

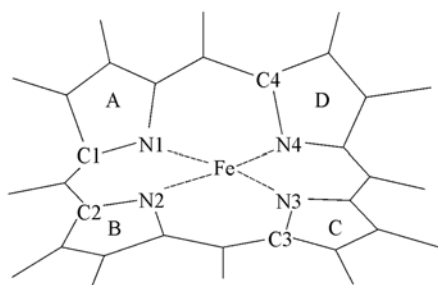


Fig. 3 Stereoview of ruffing form

The twist-angle is defined as the C1—N1—N3—C3 dihedral angle (τ_{AC}) and the C2—N2—N4—C4 dihedral angle (τ_{BD}).

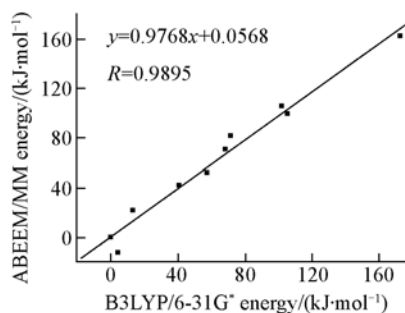


Fig. 4 Comparison of ABEEM/MM method and B3LYP/6-31G* method for the ruffing conformational energies

Table 5 Twist-angles and the ruffing conformational energies of heme

State	PDB code	X-ray		Ruffing conformational energy/(kJ·mol ⁻¹)	
		$\tau_{AC}/(^{\circ})$	$\tau_{BD}/(^{\circ})$	B3LYP/6-31G*	ABEEM/MM
Reduced	1CXC	5.22	-14.38	0.00	0.00
	1QL3	2.73	-15.21	13.14	21.97
	1HRO	3.49	-15.74	57.74	52.01
	1YTC	6.79	-18.31	68.74	70.79
	1CIE	0.45	-23.66	101.80	105.44
	1YCC	8.54	-30.64	172.67	162.51
Oxidized	1QL4	7.49	-12.78	0.00	0.00
	1C52	16.40	-16.79	4.48	-12.05
	1CCR	8.96	-22.93	41.21	42.01
	1HRC	11.48	-25.04	71.88	81.17
	2YCC	19.34	-40.06	105.48	99.04

2.3 电荷分布

在固定电荷力场中,同一类型原子带有同样的电荷.但在 ABEEM/MM 力场中,每个原子、化学键以及孤对电子的电荷都会随化学环境的变化而变化.比如血红素分子中最典型的的就是侧链丙酸基中的氧原子.

表 6 分别给出了 ABEEM/MM 力场和 CHARMM 力场计算细胞色素 c_{552} 晶体部分原子(原子标号参见图 2)的电荷分布.其中还原态晶体(PDB code 1QL3)的原子 O1A 的电荷为 $-0.87 e$, O1B 的电荷为 $-0.82 e$.这种差异主要在于受到周围原子的极化等作用,其中 O1A 不仅受到周围氨基酸上原子和结构水分子形成氢键的作用,而且还受到 Arg36 中氮上氢原子的非键相互作用,但 CHARMM 固定电荷力场的电荷却不能反映出原子电荷的极化等作用.

Table 6 Charge distributions of atom O and iron ion in the heme prosthetic group*

Atom or ion	Fe	O1A	O1B	O1C	O1D
Reduced form	1.24(1.20)	-0.87(-0.74)	-0.82(-0.74)	-0.80(-0.74)	-0.83(-0.74)
Oxidized form	1.32(1.34)	-0.84(-0.64)	-0.80(-0.64)	-0.78(-0.64)	-0.81(-0.64)

* The charge from CHARMM force field^[5] was in the braces. The charge of the bond by ABEEM/MM can be allocated again to the relevant atom in order to compare to the charge of the CHARMM force field.

实际上,原子电荷的极化作用在血红素分子与蛋白质相互作用过程中是非常重要的.由于原子电荷的极化,提高了血红素分子与蛋白质的相互作用能,有利于血红素分子稳定地嵌入到蛋白质母体中.另一方面,准确地计算原子的极化电荷,对于动力学模拟血红蛋白中血红素分子的氧化还原势也具有促进作用,因为在动力学模拟过程中,要获得准确的氧化还原势和自由能都与准确的电荷计算有关.所以将 ABEEM/MM 浮动电荷力场应用于血红素蛋白中具有重要的意义.

3 结 论

利用蛋白质晶体结构数据库中晶体结构和量子化学计算,拟合了细胞色素 c 中血红素分子的 ABEEM/MM 浮动电荷力场参数.采用拟合的参数、ABEEM/MM 力场与 CHARMM 力场等方法相比更好地模拟了血红素分子的晶体结构.用 ABEEM/MM 力场计算的血红素 ruffling 构象能与用 B3LYP/6-31G* 计算所得结果线性相关系数达到 0.98 以上,同时表明 twist-angle 对 ruffling 构象能有明显影响.ABEEM/MM 力场计算的细胞色素 c_{552} 中血红素分子的电荷有助于理解血红素分子与蛋白质氨基酸的相互作用.可见该力场对血红素分子结构的模拟有利于金属蛋白等体系的研究.

参 考 文 献

- [1] Jentzen W., Ma J. G., Shelnett J. A.. Biophysical J. [J], 1998, **74**: 753—763
- [2] Mackerell A. D. Jr., Bashford D., Bellott R. L., *et al.*. J. Chem. Phys. B [J], 1998, **102**: 3586—3616
- [3] Munro O. Q., Bradley J. C., Hancock R. D., *et al.*. J. Am. Chem. Soc. [J], 1992, **114**: 7218—7230
- [4] Shelnett J. A.. J. Porphyrins Phthalocyanines [J], 2000, **4**: 386—389
- [5] Autenrieth F., Tajkhorshid E., Baudry J., *et al.*. J. Comput. Chem. [J], 2004, **25**: 1613—1622
- [6] Oda A., Yamaotsu N., Hirono S.. J. Comput. Chem. [J], 2005, **26**: 818—826
- [7] WANG Chang-Sheng(王长生), SUN Ren-An(孙仁安), YANG Zhong-Zhi(杨忠志). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 1997, **18**(8): 1353—1355
- [8] Yang Z. Z., Wang C. S.. J. Phys. Chem. A [J], 1997, **101**: 6315—6321
- [9] Wang C. S., Yang Z. Z.. J. Chem. Phys. [J], 1999, **110**: 6189—6197
- [10] Cong Y., Yang Z. Z.. Chem. Phys. Lett. [J], 2000, **316**: 324—329
- [11] YANG Zhong-Zhi(杨忠志), CONG Yao(丛尧), WANG Chang-Sheng(王长生). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 1999, **20**(11): 1781—1783
- [12] YANG Zhong-Zhi(杨忠志), XIAO Hong-Yan(肖红艳). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2005, **26**(11): 1886—1889
- [13] Yang Z. Z., Wu Y., Zhao D. X.. J. Chem. Phys. [J], 2004, **120**: 2541—2557
- [14] Wu Y., Yang Z. Z.. J. Phys. Chem. A [J], 2004, **108**: 7563—7576

- [15] Li X. , Yang Z. Z. . J. Chem. Phys. [J], 2005, **122**: 084514
- [16] Yang Z. Z. , Li X. . J. Chem. Phys. [J], 2005, **123**: 094507
- [17] Yang Z. Z. , Li X. . J. Phys. Chem. A[J], 2005, **109**: 3517—3520
- [18] Li X. , Yang Z. Z. . J. Phys. Chem. A[J], 2005, **109**: 4102—4111
- [19] Zhang Q. , Yang Z. Z. . Chem. Phys. Lett. [J], 2005, **403**: 242—247
- [20] Yang Z. Z. , Zhang Q. . J. Comput. Chem. [J], 2006, **27**: 1—10
- [21] Yang Z. Z. , Qian P. . J. Chem. Phys. [J], 2006, **125**: 064311
- [22] ZHANG Qiang(张强), YANG Zhong-Zhi(杨忠志). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2005, **26**(12): 2345—2347
- [23] Northrup S. H. , Pear R. P. , Morgan J. D. , *et al.* . J. Mol. Biol. [J], 1981, **153**: 1087—1109
- [24] Prabhu N. V. , Dalosto S. D. , Sharp K. A. , *et al.* . J. Phys. Chem. B[J], 2002, **106**: 5561—5571
- [25] Bret C. , Roth M. , N rager S. , *et al.* . Biophy. J. [J], 2002, **83**: 3049—3065
- [26] Prabhu N. V. , Zhu P. , Sharp K. A. . J. Comput. Chem. [J], 2004, **25**: 2049—2064
- [27] Scharnagl C. , Reif M. , Friedrich J. . Biophy. J. [J], 2005, **89**: 64—75
- [28] Harrenga A. , Reincke B. , Rterjans H. , *et al.* . J. Mol. Biol. [J], 2000, **295**: 667—678

Studies on the Heme Prosthetic Group's Geometry by ABEEM/MM Method

CUI Bao-Qiu^{1,2}, GUAN Qing-Mei¹, GONG Li-Dong¹, ZHAO Dong-Xia¹, YANG Zhong-Zhi^{1*}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China;

2. Department of Chemistry, Jinzhou Teacher College, Jinzhou 121000, China)

Abstract Applying the developed parameters, the heme prosthetic group was simulated by the ABEEM/MM method. The results show that these simulations can reproduce better X-ray structures than CHARMM method. The distorted ruffling conformational energies obtained from the ABEEM/MM method agree well with those by B3LYP/6-31G* method. The linear correlation coefficient R is over 0.98. The investigations show that the twist-angles have important effects on the ruffling conformational energies. The accurate charge for Cytochrome c_{552} from ABEEM/MM method can be used to investigate better the polarization effects than those from CHARMM method.

Keywords ABEEM/MM method; Heme; Geometry; Conformational energy; Charge distribution

(Ed. : Y, I)