

# 藻胆蛋白简化分子结构的理论计算

湛敏<sup>1,2</sup> 程江维<sup>1,2</sup> 曹友东<sup>1,2</sup> 吴友恒<sup>1,2</sup> 张云怀<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> 重庆大学化学化工学院, 重庆 400030;

<sup>2</sup> 重庆市三峡库区自然生态系统结构与系统模拟重点实验室, 重庆 400030)

**摘要** 本文以蓝藻内特殊的色素蛋白——藻胆蛋白(phycobiliprotein, PC)为研究对象, 首先对生物大分子 PC 几何结构进行优化简化, 对该分子的频率进行了计算, 并没有出现虚频。采用半经验方法(modified neglect of diatomic overlap parametric method 3, PM3)、从头算法(hartree-fock, HF)、密度泛函法(density functional theory, DFT)分别计算了 PC 简化分子的能量、紫外光谱、红外光谱。结果显示活性基团的相对位置与实测值较接近, 证明理论计算值接近真实情况。

**关键词** 藻胆蛋白; 计算方法; 简化构型; 红外光谱

蓝藻水华危害严重, 有害蓝藻水华的频繁暴发促使各国科学家对蓝藻及其光合作用机制进行深入的研究<sup>[1]</sup>。藻胆蛋白(phycobiliprotein, PC)作为蓝藻特有的捕光色素蛋白<sup>[2]</sup>, 其含量占到蓝藻可溶性蛋白的40%<sup>[3]</sup>, 它把捕获的光能高效地传递给叶绿素, 从而使藻类的光合作用得以发生<sup>[4]</sup>。特别是 PC (包括藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白)的存在使蓝藻可以利用其它藻类所不能利用的绿、黄和橙色部分的光(500~600 nm), 从而具有比其它藻类更宽的光吸收波段, 能更有效地利用水下光的有效光辐射并可以生长在仅有绿光的环境中, 使其生长难以控制, 所以研究蓝藻 PC 分子结构及其光能传递机制具有重要的生态环境意义和理论意义<sup>[5]</sup>。

对于 PC 的量子化学计算研究主要集中在 PC 的光谱性质上。PC 光谱性质主要决定于藻胆色素的结构、数量和 PC 聚集程度。Mimuro 等<sup>[6]</sup>采用 INDO-CI 方法计算了 C-PC 的藻蓝胆素的吸收波长和振子强度; Hildebrandt<sup>[7]</sup>采用密度泛函理论(density functional theory, DFT)研究了藻蓝胆素的增强拉曼光谱特性。由于 PC 属于分子量很大的生物大分子, 采用从头算法(hartree-fock, HF)和 DFT 对其进行精确的量子化学计算研究几乎是不可能的。而生物大分子一般都是由活性中心与辅助蛋白或基团组成的, 主要的生物化学活性基本上由活性中心决定, 因此可以通过引入虚拟细胞概念对生物大分子进行合理而有效的简化, 再进行量子化学计算和对比性研究。

本文借助大规模并行计算软硬件平台, 以 DFT、半经验算法(modified neglect of diatomic overlap parametric method 3, PM3)和 HF 研究计算蓝藻 PC 中的

吸光色素分子的结构简化表达方法, 为进一步了解蓝藻光合作用能量传递机制提供了理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 量子化学大规模并行计算平台

64 位并行计算服务器, 4 个 Itanium-2 CPU 1.6 GHz, 三级缓存 9 MB, 内存 16 GB; Linux AS 4.0 IA64, 量子化学计算软件 Gaussian 2003 For IA64 on Linux (简称 G03), 分子构建软件 GView4 IA64 (简称 GV)。

### 1.2 计算模型

计算模型分别采用限制条件比较少的 PM3、HF、DFT 中 3-21G 基组对气态下的 PC 分子进行分子的优化和频率计算。

## 2 结果

### 2.1 PC 分子优化构型

B3LYP/3-21G(d)计算水平下 PC 的最终构型如图 1 所示。图中, 蓝色球为 N 原子, 红色球为 O 原子, 灰色球为 C 原子, 白色球为 H 原子。经过优化之后, 分子的环状结构形成了近似的共轭大  $\pi$  键; 而氮原子与碳之间也或以单键形式, 或以共轭键形式连接。

根据势能面上点的性质, 在进行几何优化时找到的点可能是鞍点也可能是极小值点, 而鞍点与极小值点可通过在该构型下分子是否有虚频来区分<sup>[8]</sup>。因

收稿日期: 2009-08-07 接受日期: 2010-03-10

国家自然科学基金(No.20877105); 重庆大学“211 工程”三期建设项目(No.S-09013); 重庆大学大学生创新基金项目

\* 通讯作者。Tel: 023-65102531, E-mail: xp2031@163.com, minzhan76@yahoo.com.cn

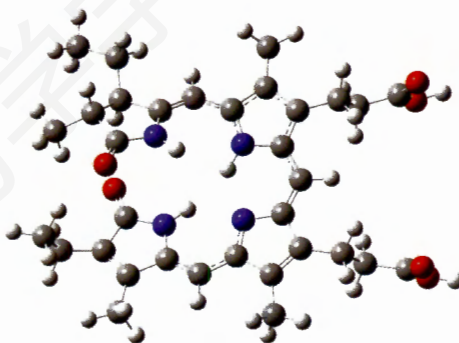


Fig.1 The optimized geometries of PC under B3LYP/3-21G(d)

Table 1 The comparison of energy of PC optimized by different method

| Method      | Single point energy | Convergence criteria | Virial coefficient | Spin contamination |
|-------------|---------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| HF (3-21G)  | -1929.1017          | 0.6574D-08           | 2.0027             | 0.0000             |
| DFT (3-21G) | -1929.1846          | 0.2316D-08           | 2.0019             | 0.0000             |

Table 2 The transition energy of PC molecule under B3LYP/3-21G(d)

| Excitation state | Transition energy (ev) | Wavelength (nm) | Vibration strength |
|------------------|------------------------|-----------------|--------------------|
| 1                | 2.0459                 | 606.02          | 0.2505             |
| 2                | 2.8737                 | 431.44          | 0.0168             |
| 3                | 3.106                  | 399.18          | 0.0246             |
| 4                | 3.4293                 | 361.55          | 0.0582             |
| 5                | 3.5153                 | 352.7           | 0.2211             |
| 6                | 3.5647                 | 347.82          | 0.0022             |
| 7                | 3.6381                 | 340.8           | 0.2228             |
| 8                | 3.7304                 | 332.36          | 0.0036             |
| 9                | 3.8639                 | 320.88          | 0.0455             |
| 10               | 3.9578                 | 313.27          | 0.1419             |

此,需要在已经优化好的构型进行频率分析,已确定找到的是极小值。本文中,对以上已优化的所有构型在相同计算条件下进行频率计算,都没有出现虚频,因此可以用于进行后续的性质描述和计算。

## 2.2 PC 分子能量计算

本文采用 PM3、HF、DFT 三种不同方法优化所得到的 PC 分子,对其能量及相关参数计算如表 1 所示。

PC 先通过 PM3 进行前期结构预优化,在此基础上,重点采用 HF 和 DFT 理论对构型进行优化和计算。根据表 1,自洽场收敛判据 (convergence criteria) 值显示 HF 和 DFT 计算收敛,维里系数 (virial coefficient) 值显示 DFT 方法算出的值更小,因此 DFT 方法算出来的数据更加准确。

采用含时密度泛函理论 (time-dependent density-functional theory, TDDFT) 中三参数混合泛函 B3LYP 和 3-21G 基组计算 PC 的跃迁能如表 2 所示。在吸收波长为 606.02 nm、352.7 nm 以及 340.8 nm 时,振

动强度  $f$  较大,但只有吸收波长为 606.02 nm 时跃迁能  $E$  最低,因此,此分子在 606.02 nm 可能发生跃迁。

## 2.3 红外光谱测试数据与解析

**2.3.1 PC 分子的量化计算的红外光谱** 采用不同的方法,相同的基组情况下对 PC 做的红外光谱分析。通过量化计算后得到不同方法下红外光谱的比较如图 2 所示。采取不同方法对 PC 分子进行量化计算得到的红外谱图,其骨架振动是相似的,分别在在波数为  $1900 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$  频率段出现 3~4 个强度分布相似的峰;而在  $1300 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$  频率段不同的计算方法得到的谱图特征峰有明显差异。通过分析及比较,运用 DFT 方法得到的红外光谱图与实验做出的谱图<sup>[6,9]</sup>有比较高的一致性,如表 3 所示。

**2.3.2 谱图对比分析与结果** 将童晓滨等<sup>[10]</sup>研究得到的实验值和本实验计算值进行对比研究。为了便于对比,将实验结果转化为吸光度形式,并读取每个波数对应的吸光度,经绘图软件 OriginPro7.0 平滑

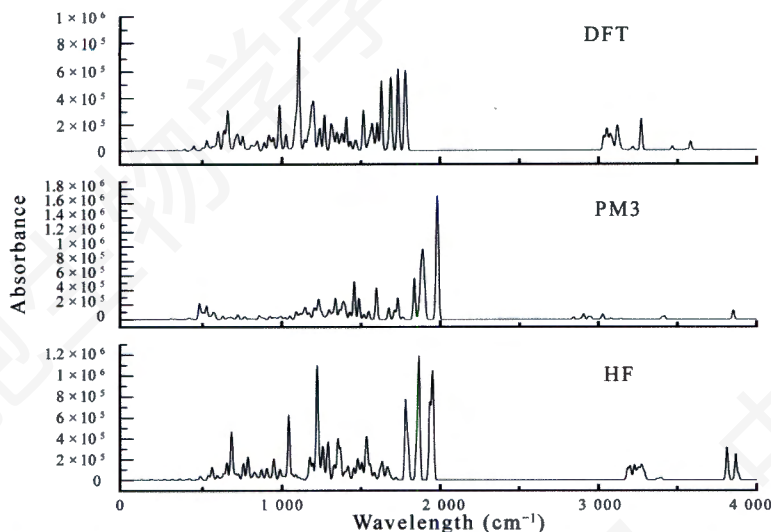


Fig.2 The comparison of IR spectrum of PC optimized by different method

Table 3 The Transition energy of PC molecule under B3LYP/3-21G(d)

| Characteristic group | Literature values [6] | Measured value [9] | Calculated value | Characteristic group | Literature values [6] | Measured value [9] | Calculated value |
|----------------------|-----------------------|--------------------|------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|------------------|
| VN-H                 | 3 308.6               | 3 421.4            | 3 277.3          | V=C=O                | 1 706.0               | —                  | 1 735.5          |
| V=CH <sub>3</sub>    | 2 923.4               | 2 918.3            | 3 113.4          | V=C=O                | 1 650.0               | 1 653.2            | 1 687.3          |
| V=CH <sub>2</sub> =  | 2 857.0               | 2 849.7            | 3 036.4          | VCH=CH               | 1 597.0               | 1 541.6            | 1 619.9          |

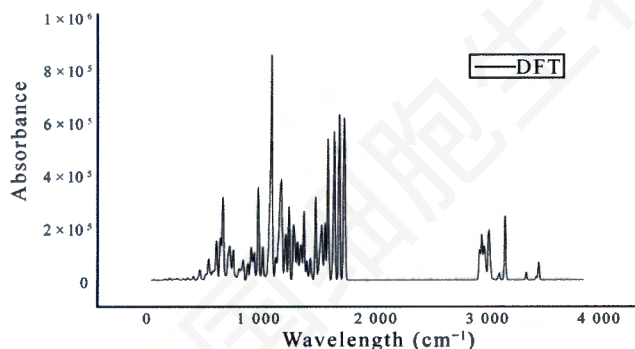


Fig.3 The measured IR spectrogram of PC [10]

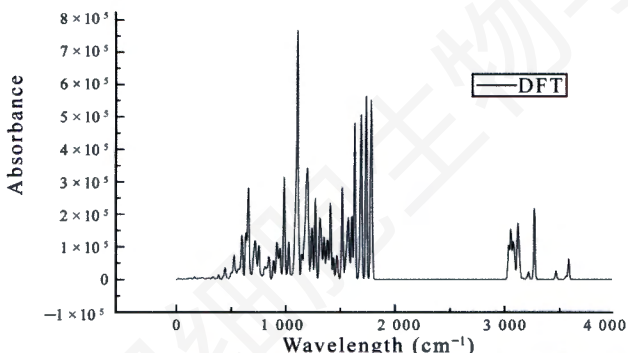


Fig.4 The calculated rectification IR spectrogram of PC [10]

等一系列处理,最终选取 1 500 ~3 500  $\text{cm}^{-1}$  波数范围内三磷酸腺苷二钠盐的红外吸收光谱,如图 3 所示。在 B3LYP/3-21G (d)水平下,振动频率的经验校正值约为 0.9086 [8]。将计算所得的频率乘以校正值,以振动频率对振动强度作图,得矫正后此构型 PC 分子的计算振动谱图如图 4 所示。

Gaussian 计算频率时,把分子中所有的振动看作是简谐振动。但实际上,在低频率(波数 $<1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ )振动模式下,非简谐振动明显,所以,即使经过校正值的校正,计算值与实验值依然存在着少许差异。结合文献中 PC 的红外谱图,分子的特征吸收峰及产生

该峰振动基团见于表 3。由表可知,PC 的文献值与实验值有很好的匹配,并与计算值在整体上有一定的可比性。但可能由于分子本身、分子存在的状态(单分子和固态)的差异以及计算理论模型和基组自身的局限性,计算结果与试验结果相比还是有所不同。

从图 3、图 4 和表 3 中可以看出在 3 000  $\text{cm}^{-1}$  以上和 1 600  $\text{cm}^{-1}$  出现吸收峰说明物质有环状结构的存在,在 1 700  $\text{cm}^{-1}$  出现多个吸收峰说明物质中含有多个 -COOH,吸收频率为 1 100  $\text{cm}^{-1}$  的吸收峰,是官能团 -CN 伸缩振动吸收产生的,而 3 270  $\text{cm}^{-1}$  的吸收峰是由于物质中 -NH 伸缩振动吸收产生的。

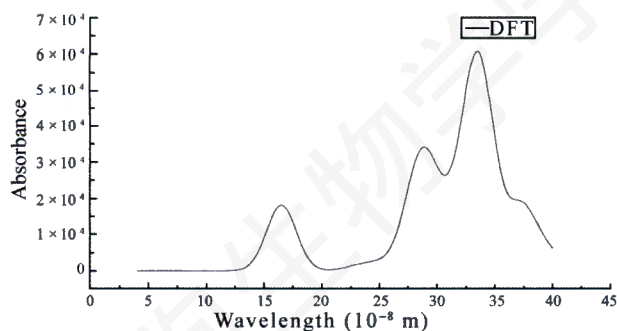


Fig.5 The diagnostic ultraviolet spectrogram of PC

综上所述,简化构型在红外光谱计算和实测对比中发现保持了PC分子活性中心原有的主要性质,对PC分子的结构简化是合理的。

#### 2.4 紫外光谱解析

本文对PC简化构型在TDDFT中三参数混合泛函B31YP和3-21G基组下计算最后得到紫外光谱图,如图5所示。将其与实测得到的PC特征紫外光谱图<sup>[10]</sup>对比可以发现,在200~400 nm范围内都出现了特征吸收峰,表明计算结果与实验结果有一定的一致性。而实验与计算时分子存在状态(单分子和固态)的差异以及计算理论模型和基组自身的局限性,计算结果可能会与实测结果存在一定偏差。

### 3 讨论

本文分别采用限制条件比较少的PM3、HF、DFT中3-21G基组对气态下的PC分子进行分子的优化,得到简化后的PC分子构型。本文重点计算HF和DFT理论下简化分子的单点能和跃迁能,在相同计算条件下频率计算都没有出现虚频,因此计算数据可用于后续性质描述和计算。通过比较,DFT方法算出来的数据更加准确。另外,还重点计算了PC简化分

子的红外光谱和紫外光谱,作为气态介质PC简化分子的量子化学计算,与实测PC分子所处的化学环境以及电子环境存在差异,使个别基团的红外光谱以及个别原子的紫外光谱发生了迁移,但活性分子的相对位置与实测值较接近,证明理论计算值接近真实情况。

综上所述,本文主要对PC简化分子进行了模拟,通过与实验数据对比证明,模拟结果与分子实测值较接近,从而为有效计算PC大分子降低计算成本提供计算基础,并为进一步了解PC分子的能量传递机制提供了理论基础。

#### 参考文献(References)

- 1 张维昊,肖邦定,方涛,张锡辉,宋立荣.天然水华蓝藻中微囊藻毒素的提取和净化研究.环境污染与防治 2003; 25(5): 265-7.
- 2 梁成伟,赵方庆,秦松.蓝藻的分子系统学研究.生物学通报 2005; 40(5): 6-7.
- 3 洪剑明.蓝藻的光合器与光合色素.生物学通报 1997; 32(9): 6-8.
- 4 王仲孚,赵谋明,彭志英,田庚元.藻胆蛋白研究.生命的化学 2000; 20(3): 72-5.
- 5 齐雨藻,楚建华,黄奕华.诱发海洋褐胞藻赤潮的环境因素分析.海洋通报 1993; 12(2): 30-4.
- 6 Mimuro M, Hirayama K, Uezono K, Miyashita H, Miyachi S. Uphill energy transfer in a chlorophyll d-dominating oxygenic photosynthetic prokaryote, *Acaryochloris marina*. Biochim Biophys Acta 2000; 1456(1): 27-34.
- 7 Hildebrandt P. Polyanion binding to cytochrome c probed by resonance Raman spectroscopy. Biochim Biophys Acta 1990; 1040(2): 175-86.
- 8 James B, Eelen Frisch. Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods. Gaussian, Inc. Pittsburgh, PA.1996; 93-110.
- 9 周筠梅.ATP合成酶的结合变化机制和旋转催化——1997年诺贝尔化学奖的部分工作介绍.生物化学与生物物理进展 1998; 25(1): 9-16.
- 10 童晓滨,宋卫军,谢好.螺旋藻藻胆蛋白的提取和纯化的初步研究.南平师专学报 2006; 25(4): 25-9.

## Theoretical Calculation on a Simplified Molecular Structure of Phycobiliprotein

Min Zhan<sup>1,2</sup>, Jiang-Wei Cheng<sup>1,2</sup>, You-Dong Cao<sup>1,2</sup>, You-Heng Wu<sup>1,2</sup>, Yun-Huai Zhang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>*Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;*

<sup>2</sup>*Chongqing Key Laboratory of Natural Ecosystem Structure and System Simulation of Three Gorges Reservoir Area, Chongqing 400030, China)*

**Abstract** Phycobiliprotein (PC) is a special pigment-protein in cyanobacteria. In this study, the geometric structure of this typical biological macromolecule PC was optimized and simplified firstly. Then by calculating the frequency of the molecule, no imaginary frequency appeared. The energy, ultraviolet spectroscopy, and infrared spectroscopy (IR) of the simplified PC molecule were calculated using the modified neglect of diatomic overlap parametric method 3 (PM3), hartree-fock (HF) and density functional theory (DFT) respectively. The results showed that the relative positions of active groups were approaching to the actual measured positions, and this proved that the calculated values were close to actual values.

**Key words** phycobiliprotein (PC); calculation method; optimization structure; infrared spectroscopy

Received: August 7, 2009      Accepted: March 10, 2010

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.20877105), the Third Stage Training of "211 Project", Chongqing University (No.S-09013), the Students Innovation Fund of Chongqing University

\*Corresponding author. Tel: 86-23-65102531, E-mail: xp2031@163.com, minzhan76@yahoo.com.cn