

文章编号:2095-6134(2020)06-0848-04

简报

# 细胞色素 c 与银纳米团簇相互作用<sup>\*</sup>

张程澄, 李晓毅<sup>†</sup>

(中国科学院大学材料科学与光电技术学院 材料科学与光电工程中心, 北京 100049)

(2019 年 4 月 3 日收稿; 2019 年 5 月 6 日收修改稿)

Zhang C C, Li X Y. Interactions between Cyt c and silver nanoclusters[J]. Journal of University of Chinese Academy of Sciences, 2020, 37(6): 848-851.

**摘要** 运用分子动力学模拟与路径通道分析法研究细胞色素 c (Cyt c) 在银纳米团簇表面上的主要吸附驱动力、构象变化和电子转移的耦合矩阵元。结果表明, 银纳米团簇表面电荷对电子转移至关重要。不带电的银纳米团簇有利于细胞色素 c 的吸附, 且容易发生电子转移反应。

**关键词** 细胞色素 c; 银纳米团簇; 耦合矩阵元

中图分类号: O642 文献标志码: A doi: 10. 7523/j. issn. 2095-6134. 2020. 06. 017

## Interactions between Cyt c and silver nanoclusters

ZHANG Chengcheng, LI Xiaoyi

(Center of Materials Science and Optoelectronics Engineering, College of Materials Science and Opto-Electronic Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** Molecular dynamics simulation and path channel analysis were performed to study the main adsorption driving force, conformational change, and electron transfer coupling matrix element of cytochrome c (Cyt c) on the surface of silver nanoclusters. The results show that the surface charge of silver nanoclusters is crucial for electron transfer. The uncharged silver nanoclusters facilitate the adsorption of Cyt c and are prone to electron transfer reactions.

**Keywords** cytochrome c; silver nanoclusters; coupling matrix element

电子转移过程在自然界和人工应用中具有突出的作用。在生物中电子转移链是光合作用和细胞呼吸作用的重要环节<sup>[1-2]</sup>。在人工应用中, 电子转移现象也具有极其重要的作用, 比如催化反应和太阳能的转换<sup>[3-8]</sup>。在已知的描述电子转移路径的理论当中, 最著名的是 Marcus 在 20 世纪 50 年代推导出的电子转移理论<sup>[9-12]</sup>。自 Marcus 理论提出以来, 在生物电子转移领域已经进行了大

量的实验<sup>[13]</sup>和理论研究<sup>[14-17]</sup>。特别是 Blumberg<sup>[18]</sup>, Hopfield<sup>[19]</sup>运用 Marcus 理论对于生物体的电子转移做了系统的工作。电子转移反应速率与耦合矩阵元成二次方关系, 而耦合矩阵元与电子转移反应中的电子给体与受体的相互作用密切相关, 因此, 耦合矩阵元对于电子转移反应的研究具有十分重要的作用。

Cyt c 是电子转移蛋白的典型例子。其蛋白

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金(21274164)资助

<sup>†</sup> 通信作者, E-mail: lixy@ucas.ac.cn

内部是由 4 个吡咯氮原子保持的血红素-Fe。它是一种水溶性碱性蛋白, 普遍存在于动物细胞线粒体内膜的外表面, 是最保守的蛋白质之一。由于其简单性、稳定性和可用性, Cyt c 已成为氧化还原蛋白电子转移的实验和理论研究的主要蛋白之一<sup>[20-22]</sup>。

纳米技术的快速发展促进了纳米材料在生物传感器、体内成像、催化、抗病原体 and 药物输送中的应用<sup>[23]</sup>。在所有金属纳米颗粒中, 纳米银颗粒由于具有强大的光学、电学和治疗潜力而引起非常多的关注。特别是在生物医学领域, 人们正在深入探索使用纳米银颗粒作为佐剂和纳米粒子的抗菌药物制剂<sup>[24]</sup>。纳米银颗粒治疗与生物医学应用的快速增长, 迫使我们理解纳米银颗粒与蛋白质的相互作用。虽然银纳米颗粒在生物学应用中受到了欢迎和广泛的使用, 但是也有文献报道银纳米颗粒的不良反应, 这使其成为生物医学应用的一个研究热点<sup>[25]</sup>。

有文献表明, 银团簇可以进入细胞<sup>[26]</sup> 丢失一个电子带一个正电的银离子<sup>[27]</sup>, 对富含细胞色素 c 的线粒体产生生理毒性。而细胞色素 c 作为生物传递电子的关键蛋白, 本身的氧化还原中心就极易得到一个电子或失去一个电子。那么银纳米团簇与细胞色素 c 之间就很容易发生电子转移反应。

本文主要研究 Cyt c 分别与带正电的银纳米团簇和不带电银纳米团簇之间的电子转移矩阵元和吸附相互作用, 为两者之间的电子转移反应速率的计算提供了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 模型搭建

使用分辨率为 0.19 nm 的马心 Cyt c 的 X 射线晶体结构(PDB: 1HRC.pdb)作为模拟的初始结构。该蛋白包含 104 个氨基酸残基和 1 个辅助因子残基(血红素)。血红素的铁离子与 1 个组氨酸(His18)和 1 个甲硫氨酸(Met80)配位, 血红素环的 2 个乙烯基通过硫醚键与 2 个半胱氨酸的硫原子(Cys14 和 Cys17)共价链接。同时, 利用 Materials Studio 软件生成直径为 3 nm 的银纳米团簇。

### 1.2 分子动力学模拟

所有分子动力学模拟都使用 Namd2.13 软件包和 Amber03 力场。血红素的力场参数及其肽

链链接来自 Autenrieth 等<sup>[28]</sup>的工作。银纳米团簇的力场参数来自 Staelen 等<sup>[29]</sup>的工作。设置两个模拟体系, 分别是表面不带电的纳米团簇( $P_1$ )与表面带正电的纳米团簇( $P_2$ )。每次模拟都会使用最速下降法进行 10 000 步的最小化模拟, 以此消除不良的空间接触。此后使用 200 ns 的分子动力学模拟松弛蛋白。在模拟过程中, 所有氢键受到约束。短距离范德华相互作用的截断距离设置为 1.2 nm。采用粒子网格 Ewald(PME)方法处理远程静电相互作用。310 K 下模拟水溶液中银纳米团簇与 Cyt c 的吸附作用。积分时间步长 2.0 fs。每 500 步记录 1 次轨迹文件。分子动力学轨迹可视化用 VMD 实现<sup>[30]</sup>。

### 1.3 电子耦合矩阵元

如 Marcus<sup>[9-12]</sup>所述, 电子转移与蛋白质内的氧化还原中心、蛋白质的取向和电子转移距离有关。电子耦合矩阵元反映了反映物电子态与产物电子态之间的耦合强度。Balabin 等<sup>[30]</sup>研究隧道通道模型(PTM)计算电子转移中氧化还原中心的耦合强度, 该模型将供体和受体之间的介质描述为由相同重复单元组成的桥。本文采用路径通道法计算 Cyt c 与银纳米团簇之间的耦合矩阵元。Cyt c 中的三价 Fe 作为电子受体, 银纳米团簇作为电子给体。连接给体与受体的桥被分解为通过共价键、氢键和贯穿空间跳跃连接的较小亚基。每个连接被分配一个耦合衰减, 并且通过结构搜索算法用于计算氧化还原位点的最佳途径。其表达式为

$$T_{DA} \propto \prod_i \varepsilon_i^C \prod_j \varepsilon_j^H \prod_k \varepsilon_k^S,$$

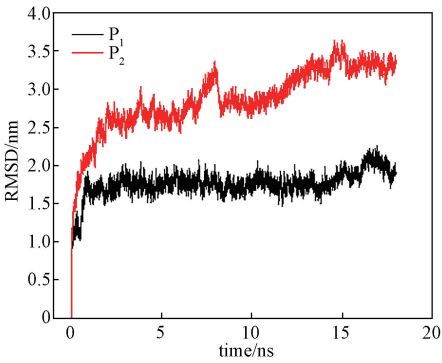
其中共价键的衰减因子  $\varepsilon^C = 0.6$ , 来源于 Closs 和 Miller<sup>[31]</sup>的实验。空间跳跃的衰减因子  $\varepsilon^S = \varepsilon^C \exp[-\beta^S(R^S - 0.14)]$ ,  $R^S$  代表跳跃距离, 单位 nm。氢键的衰减因子  $\varepsilon^H = (\varepsilon^C) 2 \exp[-\beta^H(R^H - 0.28)]$ ,  $R^H$  为氢键的长度(重原子到重原子之间)。衰减因子  $\beta^S = 17 \text{ nm}^{-1}$  后来降低到  $11 \text{ nm}^{-1}$  反映典型的氧化还原辅因子的结合能<sup>[32]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 均方根偏差与均方回转半径

为定量地表征 Cyt c 总的构象变化, 计算了骨架原子的均方根偏差(RMSD), 如图 1 所示。

RMSD 可以表征蛋白质构象的变化。从图 1 中可以看出两个系统的 RMSD 值先增加后稳定



$P_1$  体系中银纳米团簇体系不带电,  
 $P_2$  体系中银纳米团簇体系带正电。

图 1 RMSD 随时间的变化曲线

Fig. 1 RMSD curves of the  $P_1$  and  $P_2$  systems

在一个值。在带电银纳米团簇的表面 RMSD 的值最大,为 0.33 nm,这表明 Cyt c 经历了一个较大的结构变化。而在不带电的表面上,Cyt c 的 RMSD 值较小,为 0.18 nm。这表明结构变化较小。

同时计算最后 3 nm 的均方回转半径( $R_g$ )和电子转移耦合矩阵元。通过计算均方回转半径  $R_g$  可以反映 Cyt c 链的构象。对于  $P_1$  和  $P_2$  体系,平均  $R_g$  值分别为 1.33 和 1.36 nm。又因为在水溶液中的均方回转半径为 1.33 nm。这表明带电银纳米团簇会对 Cyt c 构象产生明显的影响。

2.2 电子转移矩阵元

通过分析平衡态最后 3 ns 的耦合矩阵元,分别得出耦合矩阵元与电子传递路径的统计平均值。数据见表 1。

表 1 耦合矩阵元的值

Table 1 Value of the coupling matrix elements

体系	$D_{Fe-Ag}^a/\text{nm}$	$T_{DA}/\text{eV}$
$P_1$	0.92	$4.25 \times 10^{-3}$
$P_2$	3.10	$2.89 \times 10^{-6}$

注: $D_{Fe-Ag}^a$  表示电子转移路径的长度。

由表 1 可知,带正电的  $P_2$  体系的电子转移距离是不带电的  $P_1$  体系的电子转移距离的 3 倍。从表 1 中还可得出, $P_1$  体系的耦合矩阵元数值比  $P_2$  体系的数值大 3 个数量级。说明带电体系对电子耦合矩阵元影响很大,再根据 Marcus 的电子转移理论,路径越短耦合强度越强,电子转移的速率更可能偏大,更容易发生电子转移。因此这很可能导致  $P_1$  电子转移速率大于  $P_2$  的电子转移速率。

图 2 为  $P_1$  体系与  $P_2$  体系的电子转移图。其中蛋白质使用 Newribbons,氧化还原中心使用球棍模型,银纳米团簇使用 CPK,红色柱状通道为 PTM 构建的电子转移路径通道。从图中可以清晰地看到, $P_1$  体系电子转移路径通道要比  $P_2$  体系的电子转移路径通道短。

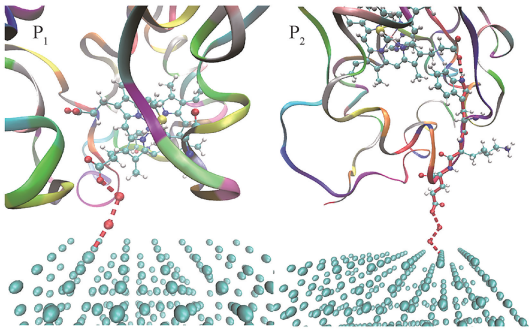


图 2  $P_1$  和  $P_2$  体系的电子转移路径通道

Fig. 2 Electron transfer paths in the  $P_1$  and  $P_2$  systems

3 结论

运用分子动力学原理,研究 Cyt c 与银纳米团簇的吸附和电子转移的性质。计算结果表明,带电银纳米团簇对 Cyt c 有静电相互作用,对 Cyt c 构象有明显影响,使得电子转移路径较长,电子耦合矩阵元较小,不利于电子转移。不带电的银纳米团簇与 Cyt c 之间的电子转移路径较短,对构象影响较小,有更大的耦合矩阵元,有利于电子转移的发生。

本文的计算结果是在中国科学院计算机网络信息中心超级计算中心的“元”超级计算机上得到的。

参考文献

[ 1 ] Bauer A, Westkamper F, Grimme S, et al. Catalytic enantioselective reactions driven by photoinduced electron transfer [ J ]. Nature, 2005, 436( 7054 ):1139-1140.

[ 2 ] Bixon M, Jortner J. Electron transfer; from isolated molecules to biomolecules [ C ] // Jortner J, Bixon M. Advances in Chemical Physics: Electron Transfer- from Isolated Molecules to Biomolecules, Pt 1. Hoboken: John Wiley & Sons Inc, 1999; pp. 35-202.

[ 3 ] Chen P Y, Meyer T J. Medium effects on charge transfer in metal complexes [ J ]. Chemical Reviews, 1998, 98( 4 ): 1439-1477.

[ 4 ] Cleland D M, Irwin G, Wagner P, et al. Linker conjugation effects in rhenium ( I ) bifunctional hole-transport/emitter molecules [ J ]. Chemistry-a European Journal, 2009, 15

- (15);3682-3690.
- [5] Collin J P, Laine P, Launay J P, et al. Long-range coupling in a mixed-valence diruthenium complexes containing bis-terpyridine ligands of various lengths as bridges [J]. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications*, 1993, (5):434-435.
- [6] Devault D. Quantum-mechanical tunnelling in biological-systems [J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 1980, 13 (4):387-564.
- [7] Dolg M, Wedig U, Stoll H, et al. Abinitio pseudopotential study of the 1st row transition: metal monoxides and iron monohydride [J]. *Journal of Chemical Physics*, 1987, 86 (4):2123-2131.
- [8] Keita B, Nadjo L. Polyoxometalate-based homogeneous catalysis of electrode reactions: recent achievements [J]. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical*, 2007, 262(1-2): 190-215.
- [9] Marcus R A. On the theory of oxidation:reduction reactions involving electron transfer. 1 [J]. *Journal of Chemical Physics*, 1956, 24(5):966-978.
- [10] Marcus R A. On theory of electron-transfer reactions. 6. Unified treatment for homogeneous and electrode reactions [J]. *Journal of Chemical Physics*, 1965, 43(2):679-701.
- [11] Marcus R A. theory of oxidation-reduction reactions involving electron transfer. 4. A statistical-mechanical basis for treating contributions from solvent, ligands, and inert salt [J]. *Discussions of the Faraday Society*, 1960,29:21-31.
- [12] Marcus R A, Sutin N. electron transfers in chemistry and biology [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1985, 811 (3):265-322.
- [13] Ishida M, Hwang D, Zhang Z, et al. Beta-functionalized push-pull porphyrin sensitizers in dye-sensitized solar cells: effect of pi-conjugated spacers [J]. *Chemsuschem*, 2015, 8 (17):2967-2977.
- [14] Harihara. Pc, Pople J A. influence of polarization functions on molecular-orbital hydrogenation energies [J]. *Theoretica Chimica Acta*, 1973, 28(3):213-222.
- [15] Hush N S. Adiabatic theory of outer sphere electron-transfer reactions in solution [J]. *Transactions of the Faraday Society*, 1961, 57(4):557-580.
- [16] Hush N S, Reimers J R. Solvent effects on metal to ligand charge transfer excitations [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 1998, 177:37-60.
- [17] Jang S J, Newton M D. Theory of torsional non-Condon electron transfer: a generalized spin-boson Hamiltonian and its nonadiabatic limit solution [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2005, 122(2):024501.
- [18] Blumberger J. Recent advances in the theory and molecular simulation of biological electron transfer reactions [J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(20):11191-11238.
- [19] Hopfield J J. Electron-transfer between biological molecules by thermally activated tunneling [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1974, 71(9):3640-3644.
- [20] Baweja L, Balamurugan K, Subramanian V, et al. Effect of graphene oxide on the conformational transitions of amyloid beta peptide: a molecular dynamics simulation study [J]. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 2015, 61:175-185.
- [21] Baweja L, Balamurugan K, Subramanian V, et al. Hydration patterns of graphene-based nanomaterials ( gbnms ) play a major role in the stability of a helical protein: a molecular dynamics simulation study [J]. *Langmuir*, 2013, 29(46): 14230-14238.
- [22] Bushnell G W, Louie G V, Brayer G D. High-resolution 3-dimensional structure of horse heart cytochrome-c [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1990, 214(2):585-595.
- [23] Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy [J]. *RSC Advances*, 2014, 4(8):3974-3983.
- [24] Arakha M, Borah S M, Saleem M, et al. Interfacial assembly at silver nanoparticle enhances the antibacterial efficacy of nisin [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016, 101: 434-445.
- [25] Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, et al. identification of the bactericidal domain of lactoferrin [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1992, 1121(1/2):130-136.
- [26] Costa C, Ronconi J V V, Daufenbach J F, et al. In vitro effects of silver nanoparticles on the mitochondrial respiratory chain [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2010, 342 (1/2):51-56.
- [27] Foldbjerg R, Dang D A, Autrup H. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549 [J]. *Archives of Toxicology*, 2011, 85(7): 743-750.
- [28] Autenrieth F, Tajkhorshid E, Baudry J, et al. Classical force field parameters for the heme prosthetic group of cytochrome c [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2004, 25(13): 1613-1622.
- [29] Staelens N, Leherste L, Champagne B, et al. Modeling of structural, energetic, and dynamic properties of few-atom silver clusters embedded in polynucleotide strands by using molecular dynamics [J]. *Chemphyschem*, 2015, 16(2): 360-369.
- [30] Balabin I A, Hu X Q, Beratan D N. Exploring biological electron transfer pathway dynamics with the Pathways Plugin for VMD [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2012, 33 (8):906-910.
- [31] Closs G L, Miller J R. Intramolecular long-distance electron: transfer in organic-molecules [J]. *Science*, 1988, 240 (4851):440-447.
- [32] Tong G S M, Kurnikov I V, Beratan D N. Tunneling energy effects on GC oxidation in DNA [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2002, 106(9):2381-2392.