

Vilniaus universitetas  
Fizikos fakultetas  
Cheminės fizikos institutas

Ligitas Vinciūnas

**BAKTERIORODOPSINO AKTYVAUS CENTRO RETINALIO  
MOLEKULĖS MOLEKULIŲ DINAMIKOS SKAIČIAVIMAI**

MAGISTRANTŪROS STUDIJŲ BAIGIAMASIS DARBAS

Gyvybės ir cheminės fizikos studijų programa

Studentas

Ligitas Vinciūnas

Leista ginti

2022-05-26

Darbo vadovas

Doc. dr. Mindaugas Mačernis

Instituto direktorius

Prof. dr. (HP) Šablinskas Valdas

Vilnius 2022

# Turinys

Ižanga .....	3
1 Literatūros apžvalga .....	4
1.1 Bakteriorodopsino baltymas .....	4
1.2 Bakteriorodopsino fotociklas .....	5
1.3 Bakteriorodopsino kristolografinės struktūros .....	6
1.4 Retinalio molekulė .....	7
2 Skaičiavimo metodika.....	8
2.1 Tankio funkcionalo teorija.....	8
2.2 Ab-initio molekulių dinamika .....	11
2.3 ONIOM skaičiavimai .....	12
2.4 Nwchem paketo kompiliavimas ir analizė.....	13
3 Bakteriorodopsino skaičiavimo rezultatai.....	14
3.1 ADMP su DFT skaičiavimo metodika .....	14
3.2 Bakteriorodopsino <i>13-cis</i> , <i>15-anti</i> konfigūracijos įvertinimas iki 1 ps .....	14
3.2.1 Pagrindinės būsenos skaičiavimai vakuume .....	14
3.2.2 L būsenos skaičiavimai vakuume ir kartu su 4 struktūromis iš baltymo .....	16
3.2.3 Pagrindinės būsenos skaičiavimai kartu su 8 struktūromis iš baltymo .....	20
3.2.4 L būsenos skaičiavimai kartu su 8 struktūromis iš baltymo .....	22
3.3 <i>13-cis</i> , <i>15-anti</i> konfigūracijos stabilumo skaičiavimai .....	23
3.4 Šifo bazės ir Lys216 sukimas .....	27
3.4.1 1C3W skaičiavimai.....	27
3.4.2 Būsenos L skaičiavimai naudojant 2NTW struktūrą .....	29
3.5 Rezultatai ir jų aptarimas .....	30
Pagrindiniai rezultatai ir išvados .....	33
Literatūra.....	34
Summary .....	36

## Ižanga

Bakteriorodopsinas – tai baltymas, atsakingas už jonų pernešimą, per ląstelės membraną[1,2]. Tam, kad bakteriorodopsinas atliktų jonų pernešimo funkciją, reikalinga šviesos energija[1,2]. Bakteriorodopsinas atrastas prieš 40 metų, organizme pavadinimu *Halobacterium salinarum*[1]. Iš karto po atradimo, nustatyta, kad bakteriorodopsinas atsakingas už protonų pernašą, per ląstelės membraną[1,2]. Bakteriorodopsiną svarbu nagrinėti, kadangi visoje gamtoje protonų pernašos mechanizmas yra labai panašus[2].

Bakteriorodopsino aktyviajame centre yra retinalis[2]. Retinaliui sugėrus šviesos energiją, jo konfigūracija pasikeičia iš *all-trans* į *13-cis*, *15-anti*[1,2]. Šis konfigūracijos pokytis sudaro sąlygas bakteriorodopsinui pradėti protono pernašos procesą[1,2].

Bakteriorodopsinui ir retinaliui modeliuoti naudojamos įvairios metodikos. Vienas populiariausių skaičiavimo metodų yra DFT (angl. Density Functional Theory). Molekulių dinamikai dažnai naudojamas ADMP (angl. Atom Centered Density Matrix Propagation molecular dynamics) metodas. Šių dviejų metodų (DFT ir ADMP) didžiausias privalumas yra tas, kad išlaikomas skaičiavimo tikslumas ir našumas. Modeliuojant bakteriorodopsiną, labai dažnai, naudojami DFT ir ADMP skaičiavimo metodai, dėl to nusprendėme naudoti būtent šiuos metodus, kadangi jų tikslumas yra pakankamas šiam darbui[3,4].

Retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracija gamtoje yra labai stabili ir išsilaiko ilgiau negu 1 ps, tačiau, molekulių dinamikos skaičiavimuose *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė yra apie kelias fs. Yra žymus neatitikimas tarp teorinių skaičiavimų ir gamtoje vykstančių procesų.

Pagrindinis šio darbo tikslas yra įvertinti retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą iki 1 ps. Pagrindiniai šio darbo uždaviniai yra daryti molekulių dinamikos skaičiavimus Gaussian16 paketu, atlikti ONIOM (angl. Our own n-layered Integrated molecular Orbital and Molecular mechanics) skaičiavimus Gaussian16 paketu, ADMP dinamikos metu įtraukti temperatūrą, molekulių dinamikos metu fiksuoti struktūras, nubraižyti bakteriorodopsino energetinius paviršius, sukompiliuoti Nwchem paketą molekulių dinamikos skaičiavimams.

Darbe buvo naudotas Vilniaus universiteto aukšto našumo superkompiuteris „VU HPC“ Saulėtekis Fizikos fakultete.

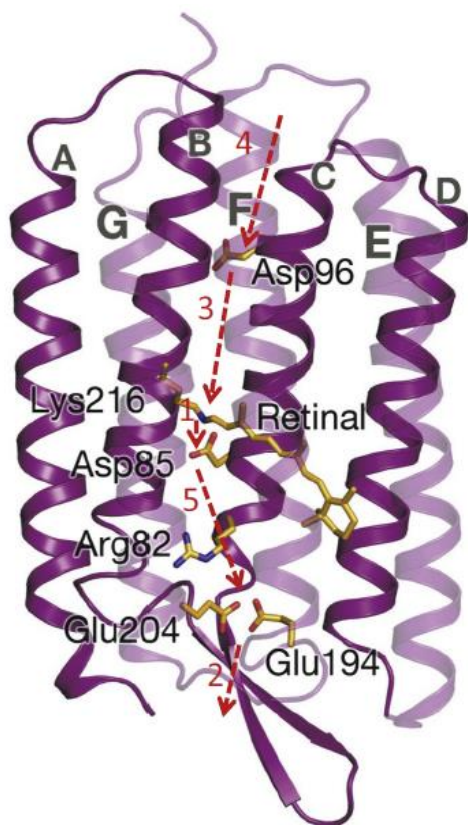
Šis darbas padarytas mokslo tiriamųjų darbų „Bakteriorodopsino baltymo aktyvaus centro modeliavimas naudojant molekulių dinamiką“ ir „Bakteriorodopsino aktyvaus centro energetinių paviršių modeliavimas ir skaičiavimas su molekulių dinamika“ pagrindais[5,6].

# 1 Literatūros apžvalga

## 1.1 Bakteriorodopsino baltymas

Bakteriorodopsinas – tai baltymas, atsakingas už jonų pernešimą per ląstelės membraną[1]. Tam, kad bakteriorodopsinas atliktų jonų pernašą, reikalinga šviesos energija. Šis baltymas atrastas prieš 40 metų, organizme lotynišku pavadinimu *Halobacterium salinarum*[1]. Netrukus po bakteriorodopsino atradimo, buvo nustatyti ir charakterizuoti kiti šios šeimos nariai. Vienas iš pirmųjų yra halorodopsinas. Iš pradžių manyta, kad halorodopsinas atsakingas už natrio jonų pernešimą, per ląstelės membraną, bet vėliau nustatyta, kad vis dėlto halorodopsinas atsakingas už chlorido jonų pernešimą[1]. Po kiek laiko identifikuoti rodopsinai, kurie organizmui gali pagelbėti apsisaugant nuo UV spinduliuotės. Vienas iš svarbesnių pasiekimų buvo proteorodopsino atradimas. Šis baltymas tarpininkauja, augaluose vykstančioje fototrofijoje (procese, kuriame iš saulės energijos sintetamos įvairios medžiagos)[1]. Proteorodopsinas kaip ir bakteriorodopsinas, yra atsakingas už protonų pernešimą[1]. Laikui bėgant, pasauliniame vandenyne buvo nustatytos įvairios bakterijų rūšys, kurios savyje turi proteorodopsino, dėl to manoma, kad proteorodopsino tarpininkaujama fototrofija yra žymiai labiau paplitusi[1]. Dėl šios priežasties yra svarbu nagrinėti bakteriorodopsino šeimą, kadangi šie baltymai dalyvauja saulės energijos absorbuojime, jūrinėje aplinkoje[1].

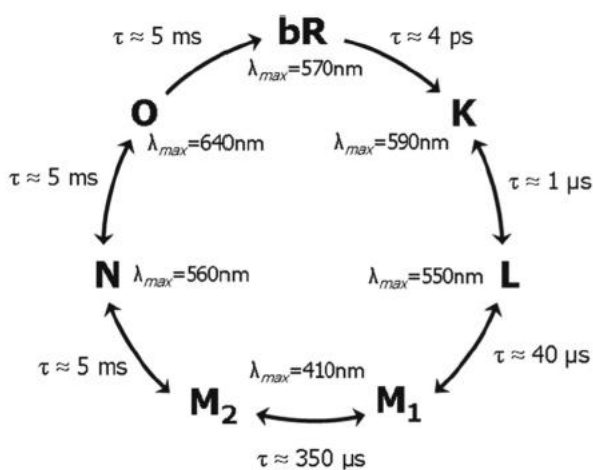
Bakteriorodopsinas yra labai stabilus baltymas[1]. Būtent dėl jo stabilumo ir saulės šviesos sukeltos funkcijos, bakteriorodopsinas ilgą laiką buvo viena iš pagrindinių modelinių struktūrų, naudojamų biofizikoje. Bakteriorodopsinas ir jo funkcija buvo labai stipriai detalizuoti pasinaudojant regimosios šviesos ir vibracinėmis spektroskopijomis. Šias spektroskopijas sukombinavus su mutageneze, buvo detaliai nustatytos bakteriorodopsino fotociklo būsenos (nuo šviesos kvanto sugėrimo, iki grįžimo į pagrindinę būseną)[1]. Taip pat nustatytas protono pernešimo mechanizmas, tarp skirtingų bakteriorodopsino struktūros elementų, kurį sukelia retinalio konfigūracijos pokyčiai. Bakteriorodopsino protono pernešimo mechanizmas pavaizduotas 1 pav.



1 pav. Bakteriorodopsine vykstantis protono pernešimas. Paveikslas paimtas iš šaltinio [1].

## 1.2 Bakteriorodopsino fotociklas

Kaip jau minėta ankščiau, bakteriorodopsinui sugėrus šviesos energiją, ima keistis jo fotociklo būsenos[1]. Visos galimos bakteriorodopsino būsenos ir tų būsenų trukmės pavaizduotos 2 pav.



2 pav. Bakteriorodopsino fotociklas. Paveikslas paimtas iš šaltinio [1].

Bakteriorodopsino fotociklo eiga:

1. *All-trans* formos retinalis sugeria fotoną ir pasikeičia į *13-cis*, *15-anti* formą[7]. Šiuo atveju vyksta perėjimas iš pagrindinės būsenos (**bR**) į **K** būseną
2. Retinalio susukimo relaksacija. Sustiprinami vandeniliniai ryšiai tarp protonuotos Šifo bazės ir Asp85[7] (**K** → **L**)
3. Protonas pernešamas iš protonuotos Šifo bazės į Asp85[7] (**L** → **M<sub>1</sub>**)
4. Protonas išlaisvinamas į tarpląstelinę terpę[7] (**M<sub>1</sub>** → **M<sub>2</sub>**)
5. Šifo bazės protonavimas, iš Asp96[7] (**M<sub>2</sub>** → **N**)
6. Asp96 protonavimas. Retinalis sugrįžta į *all-trans* formą[7] (**N** → **O**)
7. Protono pernešimas iš Asp85, į protonus išleidžiantį kompleksą ir sugrįžimas į pradinę būseną[7] (**O** → **bR**)

Bakteriorodopsino fotociklo schemeje, galima pastebėti, kad perėjimo iš **bR** į **K** būseną trukmė  $\tau \approx 4$  ps, iš **K** į **L** trukmė  $\tau \approx 1$   $\mu$ s, o iš **L** į **M<sub>1</sub>** trukmė  $\tau \approx 40$   $\mu$ s, tačiau pastebėta, kad atliekant molekulių dinamikos skaičiavimus, kai pradinė retinalio struktūra yra **L** būsenoje (*13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje), struktūra per kelias fs ima keistis į *all-trans* konfigūraciją[1].

### 1.3 Bakteriorodopsino kristolografines struktūras

Protonų pernašos funkcija visoje gamtoje yra labai panaši, dėl to bakteriorodopsino tyrinėjimas, yra labai svarbus. Tokiu būdu, įgyjame žinių ne tik apie bakteriorodopsino protonų pernašos mechanizmą, bet ir apie visai kitus protonų pernašos mechanizmus tokius kaip citochromo-c-oksidadzė, ATP-sintazė ir t.t.[1].

Bakteriorodopsino funkcija, yra labai susijusi su pačio baltymo struktūra[1]. Buvo įdėta daug pastangų, norint nustatyti tikslią bakteriorodopsino pagrindinės būsenos kristolografinę struktūrą, taip pat bakteriorodopsino kristolografines struktūras, kurios atsirastų, po šviesos energijos sugėrimo (žiūrėti 1 pav.)[1]. Pati pirmoji bakteriorodopsino struktūra, buvo suformuota 1975 metais[1]. Jos raiška yra 7 Å[1]. Ši struktūra gauta pasinaudojant natūraliai egzistuojančių bakteriorodopsino 2D kristalų, esančių *Halobacterium salinarum* membranoje, elektronų difrakcija[1]. Po 15 metų mokslininkams pavyko gauti dar tikslesnę bakteriorodopsino struktūrą, kas ir davė pradžią bakteriorodopsino tyrinėjimams[1]. 2014 metais, baltymų banke, buvo 93 bakteriorodopsino kristolografines struktūras: 84 struktūros gautos rentgeno spindulių difrakcija, 6 gautos pasinaudojus elektronų difrakcija ir 3 gautos pasinaudojus branduolių magnetiniu rezonansu[1]. Po apšvietimo šviesa, daugumoje šių struktūrų įvyksta konfigūracijos pokyčiai[1]. Manoma, kad šie konfigūracijos pokyčiai, yra susiję su bakteriorodopsino protonų pernešimo funkcija[1]. Bakteriorodopsino kristolografines struktūras pateiktos 1 lentelėje[1].

1 lentelė. Bakteriorodopsino kristolografinės struktūros. Lentelė paimta iš šaltinio [1].

PDB	SFs	Res. (Å)	Year [ref]	xtals	Notes*
1BRD	Yes	3.5	1990 [15]	PM	EM
2BRD		3.5	1996 [49]	PM	EM
1FB8		3.2	2000 [22]	PM	EM
1FBK		3.2	2000 [22]	PM	EM, D96G/F171C/F219L
1AT9		3.0	1997 [27]	PM	EM
2AT9		3.0	1999 [50]	PM	EM
1AP9	Yes	2.35	1997 [30]	LCP	
1QHJ	Yes	1.9	1999 [26]	LCP	
1QKO	Yes	2.1	1999 [16]	LCP	K-state
1QKP	Yes	2.1	1999 [16]	LCP	K-state
1E0P	Yes	2.1	2000 [118]	LCP	K:L:M (1:3:1)
1VJM	Yes	2.3	2004 [62]	LCP	L-state
1BRR	Yes	2.9	1998 [40]	HN	
1BRX		2.3	1998 [32]	LCP	
1C3W		1.55	1999 [33]	LCP	
1C8R		2.0	1999 [17]	LCP	D96N
1C8S		2.0	1999 [17]	LCP	M-state, D96N
1F4Z		1.8	2000 [20]	LCP	M-state, E204Q
1F50		1.7	2000 [20]	LCP	E204Q
1JV6		2.0	2001 [21]	LCP	D85S/F219L
1JV7		2.25	2001 [21]	LCP	D85S
3T45	Yes	3.0	2012 [116]	Bicelle	A215T
1MOK		1.43	2002 [64]	LCP	K-state
1MOL		1.47	2002 [64]	LCP	
1MOM		1.43	2002 [65]	LCP	M1-state
100A		1.62	2003 [66]	LCP	L-state
1P8H		1.52	2003 [67]	LCP	M1-state
1P8I		1.86	2003 [67]	LCP	F219L
1P8U		1.62	2003 [67]	LCP	N-state, V49A
211X	Yes	2.0	2006 [68]	LCP	D96A
2120	Yes	2.08	2006 [68]	LCP	M-state D96A
2121	Yes	1.84	2006 [68]	LCP	T46V
2NTU	Yes	1.53	2007 [69]	LCP	
2NTW	Yes	1.53	2007 [69]	LCP	L-state
1QM8		2.5	1998 [41]	VF	
1BM1		3.5	1999 [117]	VF	Light adapted
11W6		2.3	2002 [57]	VF	
11XF		2.6	2002 [57]	VF	K-state
1DZE		2.5	2004 [71]	VF	M-state
11W9		2.5	2004 [71]	VF	M-state
1UCQ	Yes	2.4	2004 [70]	VF	L-state
1X0I	Yes	2.4	2005 [75]	VF	Acid blue
1X0K	Yes	2.6	2005 [75]	VF	Alkaline purple
1X0S	Yes	2.5	2005 [77]	VF	Dark adapted
2ZFE	Yes	2.5	2008 [76]	VF	Xenon-bound
2ZZL	Yes	2.03	2009 [72]	VF	M-state
3VHZ	Yes	2.3	2012 [73]	VF	L93A
3V10	Yes	2.3	2012 [73]	VF	O-state, L93A
1LWQ		2.25	2000 [118]	LCP	M-state
1KG8		2.0	2001 [63]	LCP	M-state
1KG9		1.81	2001 [63]	LCP	Thawed & frozen
1KGB		1.65	2001 [63]	CP	
1MGY		2.0	2003 [119]	LCP	D85S + Bromine
1S8J	Yes	2.3	2004 [120]	LCP	D85S + Nitrate
1S8L	Yes	2.3	2004 [120]	LCP	D85S
4FPD	Yes	2.65	2013 [74]	LCP	D96G/F171C/F219L
1L0M			2001 [47]		NMR
1R2N			2002 [46]		NMR
1R84			2002 [46]		NMR
1KME		2.0	2002 [42]	Bicelle	
1PXR		1.7	2004 [121]	Bicelle	P50A
1PXS		2.2	2004 [121]	Bicelle	M56A
1PY6		1.8	2004 [121]	Bicelle	
1Q5I		2.3	2004 [122]	Bicelle	P186A
1Q5J		2.1	2004 [122]	Bicelle	P91A
1S51		2.0	2004 [123]	Bicelle	T24S
1S52		2.3	2004 [123]	Bicelle	T24V
1S53		2.0	2004 [123]	Bicelle	T46S
1S54		2.2	2004 [123]	Bicelle	T24A
1TN0		2.5	2004 [124]	Bicelle	A51P
1TN5		2.2	2004 [124]	Bicelle	K41P
1XJI		2.2	2005 [43]	Bicelle	
3C0C	Yes	2.31	2008 [125]	Bicelle	D115A
3C0D	Yes	2.70	2008 [125]	Bicelle	T90A/D115A
3HAN	Yes	2.75	2009 [126]	Bicelle	V49A
3HAO	Yes	2.39	2009 [126]	Bicelle	L94A
3HAP	Yes	1.60	2009 [126]	Bicelle	L111A
3HAQ	Yes	2.30	2009 [126]	Bicelle	I148A
3HAR	Yes	1.70	2009 [126]	Bicelle	I148V
3HAS	Yes	1.90	2009 [126]	Bicelle	L152A
3U1V	Yes	2.06	2012 [127]	Bicelle	Y5/F
3UTW	Yes	2.40	2012 [127]	Bicelle	P50A/Y57F
3UTX	Yes	2.47	2012 [127]	Bicelle	T46A
BTY	Yes	2.37	2012 [127]	Bicelle	P50A/T46A
2WIK	Yes	2.3	2010 [128]	LCP	E204D
2WIL	Yes	2.15	2010 [128]	LCP	E194D
3MBV	Yes	2.0	2010 [129]	LCP	
3NS0	Yes	1.78	2011 [58]	LCP	
3NSB	Yes	1.78	2011 [58]	LCP	Radiation damaged
4MD1	Yes	1.73	2014 [78]	LCP	Orange species
4MD2	Yes	1.73	2014 [78]	LCP	
4HWL	Yes	2.0	2013 [130]	Bicelle	
4HYX	Yes	1.99	2013 [130]	Bicelle	

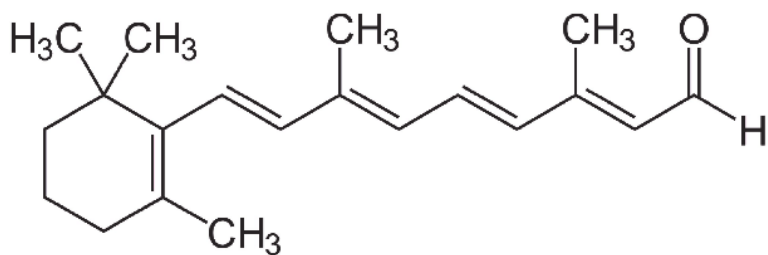
\*Unless otherwise marked these are wild-type structures of bR  
 PM: Purple Membrane  
 LCP: Lipidic Cubic Phase  
 HN: Heterogeneous Nucleation  
 VF: Vesicle Fusion  
 Shading colour indicates structures from a group or collaboration.

## 1.4 Retinalio molekulė

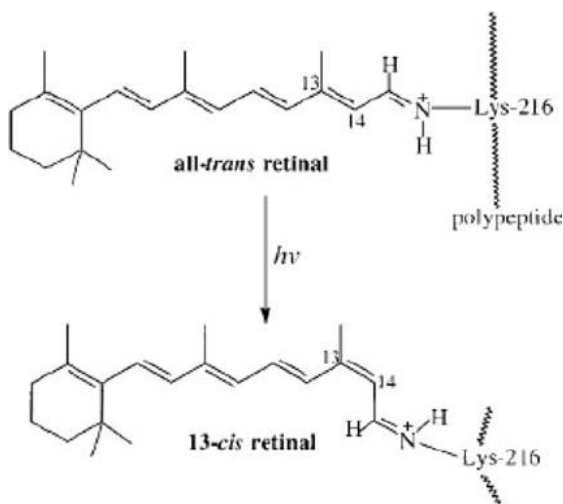
Kaip jau buvo minėta anksčiau, retinalis atlieka svarbų vaidmenį bakteriorodopsino molekulėje, kadangi protono pernešimo procesas įvyksta būtent, dėl retinalio konfigūracijos pokyčių [1].

Retinaliui sugėrus šviesos energiją (energiją sugeria 11 arba 12 retinalio anglis) maždaug po 200 fs retinalio konfigūracija pasikeičia iš *11-cis* į *all-trans* [8]. Retinalio molekulės cheminė formulė yra  $C_{20}H_{28}O$ .

Retinalio struktūra pateikta 3 pav., o *all-trans* ir *13-cis* konfigūracijos pateiktos 4 pav.



3 pav. Retinalio struktūra. Paveikslas paimtas iš šaltinio [9].



4 pav. Retinalio all-trans ir 13-cis konfigūracijos. Paveikslas paimtas iš šaltinio [10].

## 2 Skaičiavimo metodika

### 2.1 Tankio funkcionalo teorija

Daugelio kūnų sistemoms modeliuoti tokioms kaip: karotinoidai, retinalis ir t.t., dažnai naudojamas DFT (angl. density functional theory) modelis. Šiame modelyje naudojami funkcionalai, kurie nusako tiriamos sistemos, dalelių savybes. Dėl savo našumo ir tikslumo, DFT yra vienas iš populiariausių metodų, naudojamų kompiuterinėje chemijoje, fizikoje ir pan. Kadangi modelyje norima išlaikyti tikslumą, daugelio kūnų sistema aprašoma, nuostoviaja nereliatyvistine Šredingerio lygtimi[11]

$$\hat{H}\Psi_i(x_1, x_2, \dots, x_N, R_1, R_2, \dots, R_M) = E_i\Psi_i(x_1, x_2, \dots, x_N, R_1, R_2, \dots, R_M). \quad (1)$$

Čia  $\hat{H}$ – tiriamos sistemos hamiltono operatorius (pilnoji energija), kurį sudaro M skaičius branduolių ir N skaičius elektronų. Hamiltono operatorių galima išreikšti

$$\hat{H} = -\frac{1}{2}\sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \frac{1}{2}\sum_{A=1}^M \frac{1}{M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}. \quad (2)$$

Čia  $M_A$ – atomo branduolio masė,  $\nabla_q^2$ – Laplaso operatorius. Laplaso operatoriaus išraiška yra



$$\nabla_q^2 = \frac{\delta^2}{\delta x_q^2} + \frac{\delta^2}{\delta y_q^2} + \frac{\delta^2}{\delta z_q^2} \quad (3)$$

Išraiškoje (2), pirmas ir antras narys nusako branduolių ir elektronų energijas, o likę nariai aprašo sąveikas tarp elektronas – branduolys, elektronas – elektronas ir branduolys – branduolys[11]. Tokiu atveju galima įvesti dydį

$$r_{pq} = |r_p - r_q|. \quad (4)$$

Šis dydis nusako atstumą, tarp dalelių p ir q.

Kaip žinome kvantinėje mechanikoje, banginė funkcija gali pilnai nusakyti tiriamą būseną[11]. Šiuo atveju turime banginių funkcijų sistemą

$$\Psi_i(x_1, x_2, \dots, x_N, R_1, R_2, \dots, R_M) \quad (5)$$

kuri nusako  $i$  sistemos būseną. Įvedame skaičių  $E_i$ , kuris nusako  $i$  sistemos būsenos energiją. Kadangi mūsų tikslas yra išlaikyti ne tik skaičiavimo tikslumą, bet ir našumą, dėl to kažkokiu būdu reikia supaprastinti mūsų Šredingerio lygtį (5). Tam puikiai tinka Borno Oppenheimerio aproksimacija[11]. Ji sako, kad koordinatinių sistemoje, elektronai gali laisvai judėti, kai tuo tarpu branduoliai yra fiksuoti vienoje vietoje[11]. Pritaikius šį principą, Hamiltonianą galime perrašyti, tokia forma

$$\widehat{H}_{elec} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} = \widehat{T} + \widehat{V}_{Ne} + \widehat{V}_{ee}. \quad (6)$$

Tokiu atveju pilnoji energija bus

$$E_{tot} = E_{elec} + E_{nuc}. \quad (7)$$

Žinome, kad banginės funkcijos fiziškai išmatuoti mes negalime, tačiau galime išmatuoti tikimybės tankio funkciją, todėl yra naudinga surasti šią funkciją[11]. Kaip žinome iš kvantinės mechanikos, banginė funkcija pakelta kvadratu, nusako tikimybę[11]. Toliau, pakeliame išraišką (5) kvadratu ir gauname

$$|\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 dx_1 dx_2 \dots dx_N. \quad (8)$$

Šiuo atveju (8) išraiška nusako tikimybę, kad rasime elektronus (1, 2 ir t.t.) tūrio vienetuose  $dx_1, dx_2 \dots dx_N$ [11].

Iš išraiškos (8) užrašome

$$\rho(r) = N \int \dots \int |\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 ds_1 dx_2 \dots dx_N. \quad (9)$$

Ši išraiška nusako elektronų tankį (elektronų tankio funkcija).

Kaip buvo minėta anksčiau, kvantinėje mechanikoje, banginė funkcija, aprašo tiriamos sistemos būseną[11]. Norint įvertinti būsenas taikant tik bangines funkcijas, būtų paaukota daug kompiuterių resursų ir laiko[11]. Todėl reikia surasti būdą, kaip dar labiau supaprastinti skaičiavimus, išlaikant tam tikrą tikslumą[11]. Norint supaprastinti modelį, galime perrašyti banginę funkciją (turi  $N$  elektronų), į elektronų tankio funkciją[11]. Tam pasinaudosime Hohenbergo Kohno teoremomis[11]. Iš pirmosios Hohenbergo Kohno teoremos galime pamatyti, kad elektronų tankio funkcija aprašo sistemos Hamiltonianą. Toliau pasinaudojame antrąją Hohenbergo Kohno teorema ir užtikriname, kad elektronų tankio funkcija, būtų pagrindinės būsenos tankis. Tada galime užrašyti

$$E_0 \leq E[\tilde{\rho}] = T[\tilde{\rho}] + E_{Ne}[\tilde{\rho}] + E_{ee}[\tilde{\rho}]. \quad (10)$$

Toliau, tam, kad užtikrinti skaičiavimų našumą, sprendžiame Khon-Sham lygtis[11]. Šiame metode užtikrinamas geras našumas, kadangi nėra banginių funkcijų[11]. Tačiau taip pat išlaikomas ir geras tikslumas.

$$\left[-\frac{\nabla^2}{2} + v_{KS}[n](r)\right]\phi_i(r) = \epsilon_i\phi_i(r). \quad (11)$$

Toliau pats skaičiavimo algoritmas yra pakankamai paprastas. Iš pradžių spėjame  $n_0(r)$ . Šiuo atveju galime užrašyti, kad

$$n_0(r) = \sum_{\alpha} n_{\alpha}(r - R_{\alpha}). \quad (12)$$

Toliau apskaičiuojame

$$v_{KS}[n](r) = v_{ext}(r) + v_{Hartree}[n](r) + v_{xc}[n](r). \quad (13)$$

Šios išraiškos nariai randami pagal

$$v_{ext}(r) = \sum_{\alpha} v_{\alpha}(r - R_{\alpha}), \quad (14)$$

$$v_{Hartree}(r) = \int d^3r' \frac{n(r')}{|r-r'|}, \quad (15)$$

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}}{\delta n(r)}. \quad (16)$$

Suradę  $v_{KS}(r)$  reikšmę išsprendžiame (11) lygtį. Toliau perskaičiuojame  $n(r)$  reikšmę ir patikriname ar ji konvergavo. Jei reikšmė konvergavo, tai pabaigiame skaičiavimą, jeigu nekonvergavo, tai algoritmas pradedamas, iš pradžių[11].

## 2.2 Ab-initio molekulių dinamika

Molekulinėms sistemoms modeliuoti neretai naudojama molekulių dinamika. Yra kelios molekulių dinamikos rūšys. Viena populiariausių yra ab-initio molekulių dinamika (MD). Ji žymiai tikslesnė negu klasikinė MD[12]. Vienas iš dažniausiai naudojamų ab-initio molekulių dinamikos metodų yra ADMP. ADMP molekulių dinamikoje pasinaudojama Lagranžiano molekulių dinamikos metodais[12]. Šis būdas yra tinkamas dinaminėms cheminėms sistemoms[12]. Kadangi ADMP panaudojama DFT teorija, dėl to išlaikomas geras našumas ir tikslumas. Pats ADMP algoritmas yra paprastas. Visų pirma užsirašome sistemos Lagranžianą (kinetinė energija – potencinė energija)[12]

$$L = \frac{1}{2}Tr[V^T M V] + \frac{1}{2}Tr[\{\mu^{1/4} W \mu^{1/4}\}^2] - E(R, P) - Tr[\Lambda(PP - P)] \quad (17)$$

čia  $R, V, M$  – branduolių pozicijos, greičiai ir masės, o  $P, W$  – tankio matrica ir tankio matricos greitis. Masė  $\mu$  parenkama kaip diagonali matrica, turinti didesnes vertes pagrindinėms orbitalėms. Reikalingi apribojimai įvedami panaudojant Lagranžiano matricą  $\Lambda$ . Energiją galima apskaičiuoti panaudojant

$$\tilde{P} = 3P^2 - 2P^3. \quad (18)$$

Tada užrašome Eulerio-Lagranžo lygtis judėjimui[12]

$$M d^2 R / dt^2 = -\delta E / \delta R |_P, \quad (19)$$

$$d^2 P / dt^2 = -\mu^{-1/2} [\delta E / \delta P |_R + \Lambda P + P \Lambda - \Lambda] \mu^{-1/2} \quad (20)$$

Tada šias lygtis galima suintegruoti panaudojant Verlet algoritmą[12]

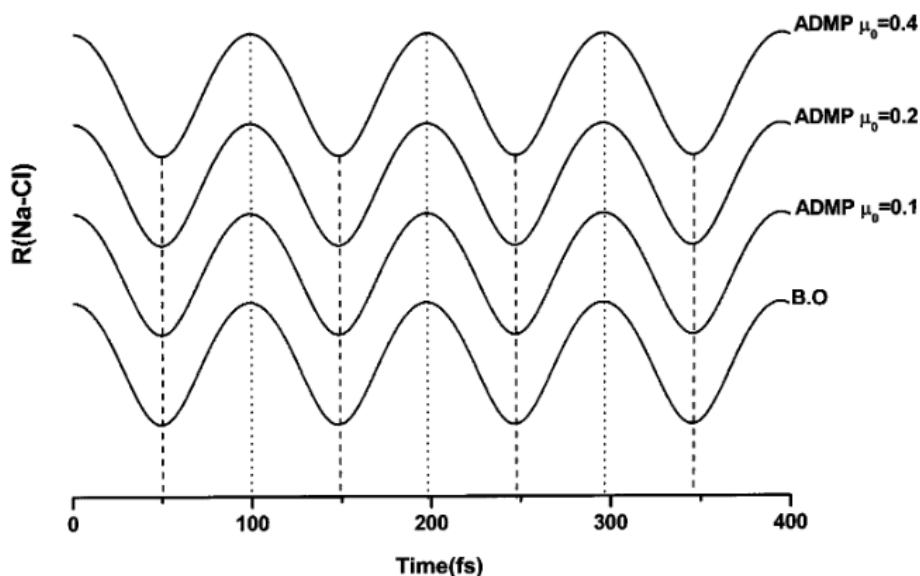
$$P_{i+1} = P_i + W_i \Delta t - \mu^{-1/2} [\delta E (R_i, P_i) / \delta P |_R + \Lambda_i P_i + P_i \Lambda_i - \Lambda_i] \mu^{-1/2} \Delta t^2 / 2, \quad (21)$$

$$W_{i+1/2} = W_i - \mu^{-1/2} [\delta E (R_i, P_i) / \delta P |_R + \Lambda_i P_i + P_i \Lambda_i - \Lambda_i] \mu^{-1/2} \Delta t / 2 = [P_{i+1} - P_i] \Delta t, \quad (22)$$

$$W_{i+1} = W_{i+1/2} - \mu^{-1/2} [\delta E (R_{i+1}, P_{i+1}) / \delta P |_R + \Lambda_{i+1} P_{i+1} + P_{i+1} \Lambda_{i+1} - \Lambda_{i+1}] \mu^{-1/2} \Delta t / 2. \quad (23)$$

Lagranžiano matricos nustatomos skaičiavimo metu taip, kad būtų tenkinamos sąlygos  $P^2 = P$  ir  $PW + WP = W$ [12]. Taip pat reikia prisiminti, kad  $P$  nekonverguoja.

Grafike 5 pav. pavaizduotas palyginimas tarp ADMP ir Borno-Oppenheimerio modelių[12].



5 pav. Dviatomės molekulės NaCl vibracijų palyginimas tarp ADMP ir B.O. modelių, naudojant skirtingas ADMP  $\mu$  reikšmes. Paveikslas paimtas iš šaltinio [12].

### 2.3 ONIOM skaičiavimai

Nors molekulių modeliavimo metodai sparčiai tobulėja (išlaikoma skaičiavimo sparta ir metodo tikslumas) tačiau iki šiol daug kompiuterio resursų ir laiko pareikalauja didelių molekulių modeliavimas. Didžiausias DFT minusas yra tas, kad visa tiriamoji sistema yra aprašoma 1 funkcionalu ir 1 bazine funkcija[13]. Neretai modeliuojant baltymus, ar kitas dideles molekules, mus labiausiai domina aktyvusis centras, kuriame vyksta procesas. Tokiu atveju aplinkines struktūras būtų galima aprašyti, naudojant mažiau tikslesnius ir spartesnius metodus. Šiam tikslui ir buvo sukurtas ONIOM metodas. Šis metodas leidžia tiriamą sistemą padalinti į 2, 3 ar daugiau sluoksnių[13]. Tokiu būdu, kiekvienam sluoksniui gali būti priskiriamas skirtingas skaičiavimo metodas. Dažnai 2 sluoksnių ONIOM skaičiavimai įvardijami kaip QM:MM, o 3 sluoksnių kaip QM1:QM2:MM[13]. QM sritis yra mus dominančioji ir joje dažniausiai naudojami labai tikslūs kvantinės mechanikos skaičiavimai, o MM srityje dažniausiai naudojami spartūs klasikinės mechanikos skaičiavimai[13].

Jeigu turime įprastą QM/MM modelį, tuomet visos sistemos energiją  $E_{QM/MM}$  galima užrašyti

$$E_{QM/MM} = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM-MM} \quad (24)$$

čia  $E_{QM}$  – QM sluoksnio pilnoji energija,  $E_{MM}$  – MM sluoksnio pilnoji energija ir  $E_{QM-MM}$  sąveika tarp QM ir MM sluoksnių[13]. Toks metodas dažnai vadinamas „sumavimo“ schema, kadangi abiejų lygmenų energijos ir sąveikos tarp jų yra sudedamos, norint gauti pilnąją sistemos energiją[13]. Išraiškos (24) narys  $E_{QM-MM}$  įvertina surišančias sąveikas esančias tarp QM/MM ribos (kovalentiniai ryšiai) ir nesurišančias sąveikas (Van der Valso jėgos, elektrostatinės jėgos)[13].

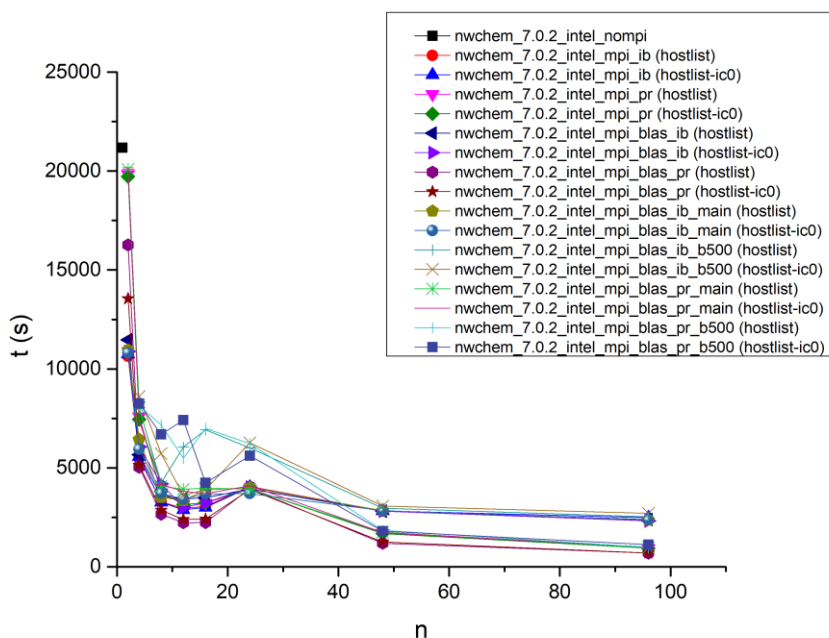
ONIOM metodo atveju bendrosios energijos  $E_{ONIOM2(QM:MM)}$  išraiška yra

$$E_{ONIOM2(QM:MM)} = E_{QM,model} + E_{MM,real} - E_{MM,model} \quad (25)$$

čia  $E_{QM,model}$  – modelinės sistemoms QM energija,  $E_{MM,real}$  – visos sistemos MM energija ir  $E_{MM,model}$  – modelinės sistemos MM energija[13]. Šios išraiškos narys  $E_{MM,real} - E_{MM,model}$  leidžia įvertinti aplinkos poveikį sistemos aktyviajam centrui (QM sluoksniui)[13].

## 2.4 Nwchem paketo kompiliavimas ir analizė

Molekulių dinamikos skaičiavimus taip pat norėjome atlikti ir su Nwchem paketu, kadangi jis labai gerai išskaido darbą per keletą mazgų. Dėl to nenukenčia skaičiavimo našumas, didinant mazgų skaičių. Buvo sukompiliuota keletas Nwchem versijų. Jų našumas buvo tikrinamas optimizuojant diatoksantino molekulę, kadangi su vienu branduoliu ji suoptimizuojama per ~ 2 val. Testų rezultatai pavaizduoti 6 pav.



6 pav. Nwchem našumo testų rezultatai.

Čia hostlist – nebuvo naudojamas infiniband tinklas, hostlist-ic0 – buvo naudojamas infiniband tinklas, ib – Nwchem sukompiliuotas nurodant infiniband parametrus, pr – Nwchem sukompiliuotas naudojant MPI-PR, mpi – naudojamas OpenMPI, omp – nenaudojama jokia MPI biblioteka, intel – naudotas intel kompiliatorius, b\_500 – naudota B\_500 skaičiavimo eilė (ten kur nieko nėra naudota B510), o blas – naudota intel matematikos biblioteka. Kaip matome iš grafiko, didžiausias našumas pasiektas su nwchem\_7.0.2\_intel\_mpi\_blas\_pr sukompiliuotu paketu. Visose šiose sukompiliuotose versijose, nebuvo naudojamos AVX instrukcijos.

## **3 Bakteriorodopsino skaičiavimo rezultatai**

### **3.1 ADMP su DFT skaičiavimo metodika**

DFT ir ADMP yra patys populiariausi metodai naudojami, tiek karotinoidų modeliavime, tiek ir bakteriorodopsino skaičiavimuose. Vienas iš puikių, bakteriorodopsino modeliavimo, pavyzdžių yra straipsnis pavadinimu „The infrared spectra of the retinal chromophore in bacteriorhodopsin calculated by a DFT/MM approach“[3], kuriame naudojami DFT ir molekulių dinamikos skaičiavimai. Kitas puikus straipsnis pavadinimu „Influence of DFT-calculated electron correlation on energies and geometries of retinals and of retinal derivatives related to the bacteriorhodopsin and rhodopsin chromophores“[4] kuriame taikomas DFT modelis. Kaip matome įvairios mokslinės grupės naudoja tiek DFT, tiek ir ADMP savo skaičiavimuose ir gauna rezultatus kuriuos galima patikrinti eksperimentiškai.

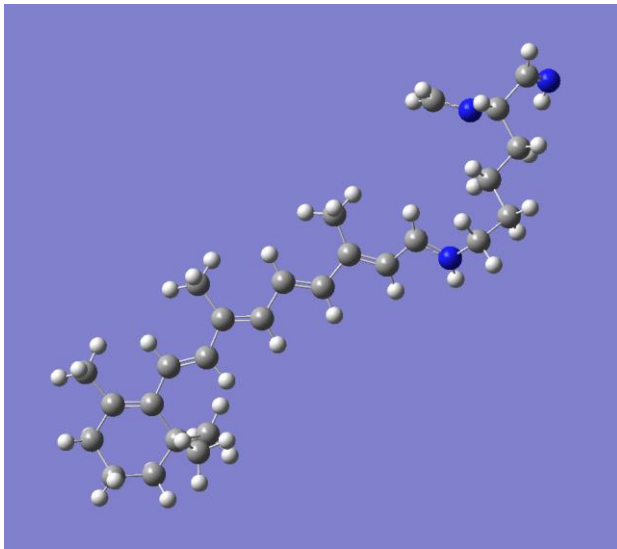
Šiame darbe buvo naudojamas Gaussian16[14,15] paketas. Naudoti skaičiavimų parametrai: funkcionalas B3LYP ir bazinė funkcija cc-pVDZ, ab-initio molekulių dinamikai naudotas ADMP metodas. ONIOM skaičiavimuose QM lygyje naudotas funkcionalas B3LYP ir bazinė funkcija cc-pVDZ, o MM lygyje struktūros optimizacijos metu naudotas pusempirikos metodas PM6, o molekulių dinamikos skaičiavimuose naudotas UFF (Universal Forcefield). Molekulių dinamikos skaičiavimai buvo atliekami 3 skirtingose temperatūrose: 300K, 70K ir 1K.

Skaičiavimuose buvo naudojamos 1C3W ir 2NTW bakteriorodopsino baltymo struktūros, kurios paimtos iš pdb duomenų banko.[16] Bakteriorodopsino 1C3W struktūra yra pagrindinėje fotociklo būsenoje, o 2NTW struktūra yra sužadintoje L būsenoje (žr. 2 pav.).

### **3.2 Bakteriorodopsino 13-cis, 15-anti konfigūracijos įvertinimas iki 1 ps**

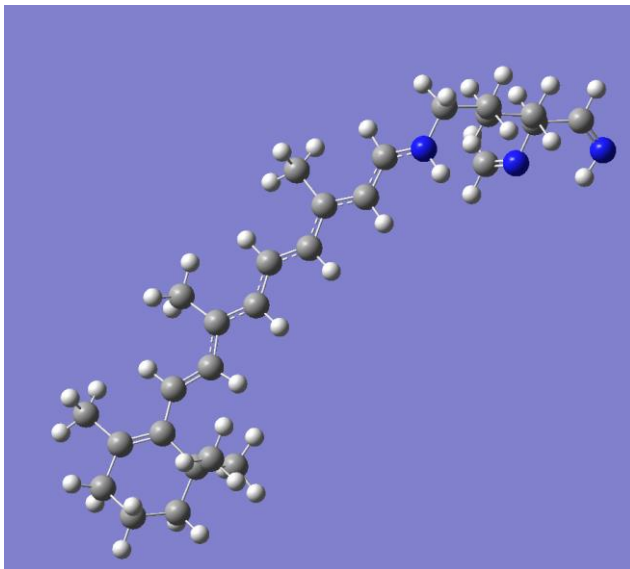
#### **3.2.1 Pagrindinės būsenos skaičiavimai vakuume**

Iš 1C3W bakteriorodopsino struktūros, iškirpta retinalio molekulė (aktyvus bakteriorodopsino centras) kartu su Lys216 ir pridėti vandeniliai (žr. 7 pav.).



7 pav. Iškirptas aktyvusis centras iš 1C3W bakteriorodopsino baltymo struktūros.

1C3W retinaliui paleista struktūros optimizacija, pagrindinėje būsenoje, kurios rezultatas pavaizduotas 8 pav.

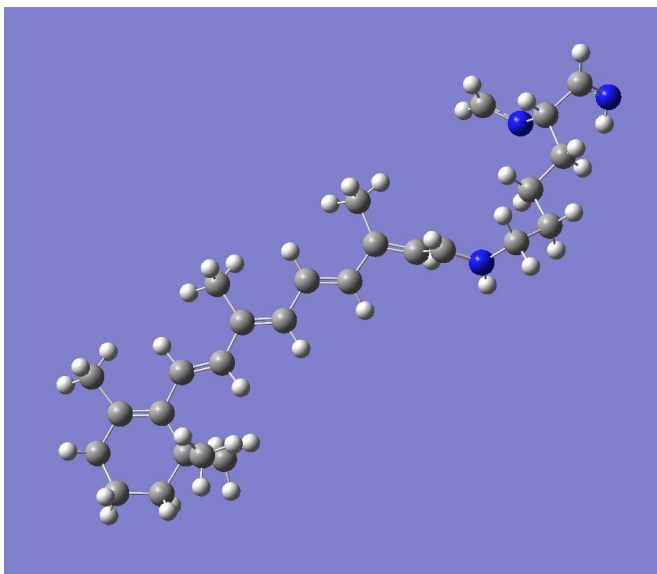


8 pav. Optimizuotas bakteriorodopsino aktyvusis centras.

Paleidus bakteriorodopsino aktyviojo centro optimizaciją, pagrindinėje būsenoje, iškirpto iš 1C3W baltymo, retinalio konfigūracija yra *all-trans*. Gauta optimizuota struktūra naudojama rezultatų palyginimui, su sužadintos būsenos retinaliu (L būsenos skaičiavimai).

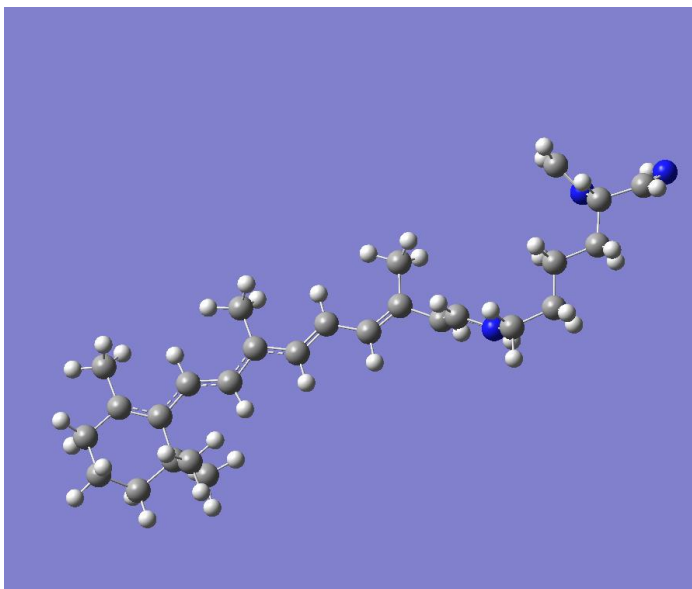
### 3.2.2 L būsenos skaičiavimai vakuume ir kartu su 4 struktūromis iš baltymo

Iš 2NTW bakteriorodopsino struktūros, iškirpta retinalio molekulė (aktyvus bakteriorodopsino centras) kartu su Lys216 ir pridėti vandeniliai (žr. 9 pav.).



9 pav. Iškirptas aktyvusis centras iš 2NTW bakteriorodopsino baltymo struktūros.

2NTW retinaliui paleista struktūros optimizacija, sužadintoje būsenoje, kurios rezultatas pavaizduotas 10 pav.

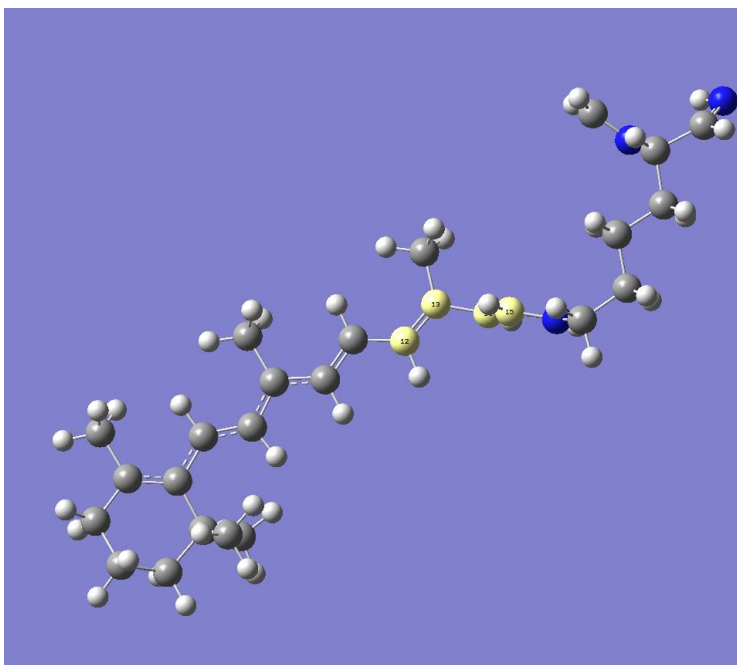


10 pav. Optimizuotas bakteriorodopsino aktyvusis centras.

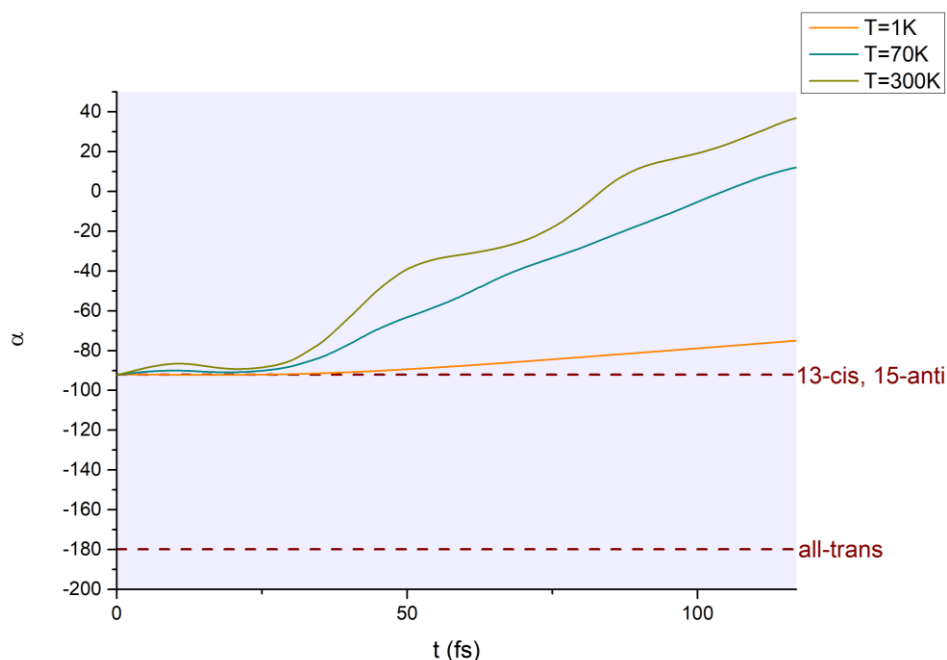
Paleidus bakteriorodopsino aktyviojo centro optimizaciją, sužadintoje būsenoje, iškirpto iš 2NTW baltymo, retinalio konfigūracija yra *13-cis*, *15-anti*. Iš mokslinės literatūros (žr. 2 pav.)



žinome, kad retinalis *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje (bakteriorodopsino fotociklo L būsenoje) turėtų išsilaikyti apie kelias ps, tačiau atliekant molekulių dinamikos skaičiavimus pastebima, kad struktūros konfigūracija pasikeičia per kelias fs. Tam įvertinti toliau buvo atliekami molekulių dinamikos skaičiavimai, kurių metu buvo stebimas pasirinkto kampo  $\alpha$  kitimas, laikui bėgant. Kampą  $\alpha$  sudarantys atomai ir skaičiavimo rezultatai pavaizduoti 11 ir 12 pav.



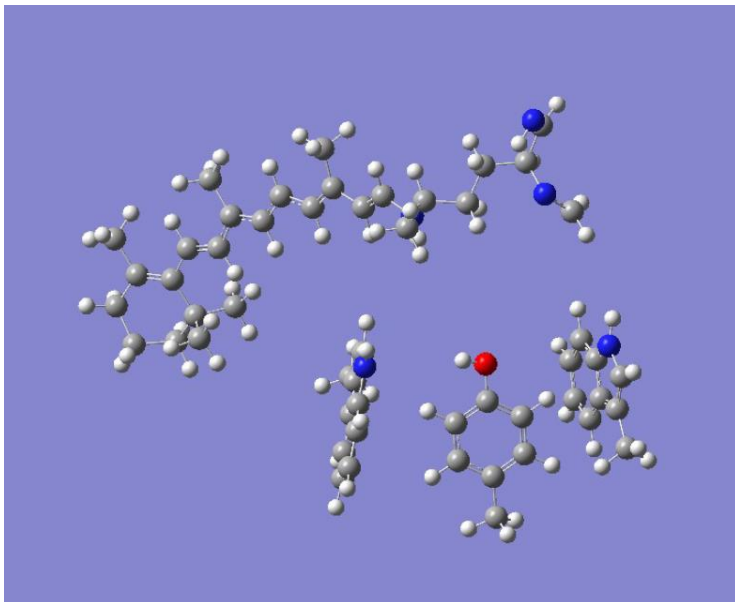
11 pav. Pažymėti atomai sudarantys dvisienį kampą  $\alpha$ .



12 pav. Kampą  $\alpha$  priklausomybė nuo molekulių dinamikos laiko.

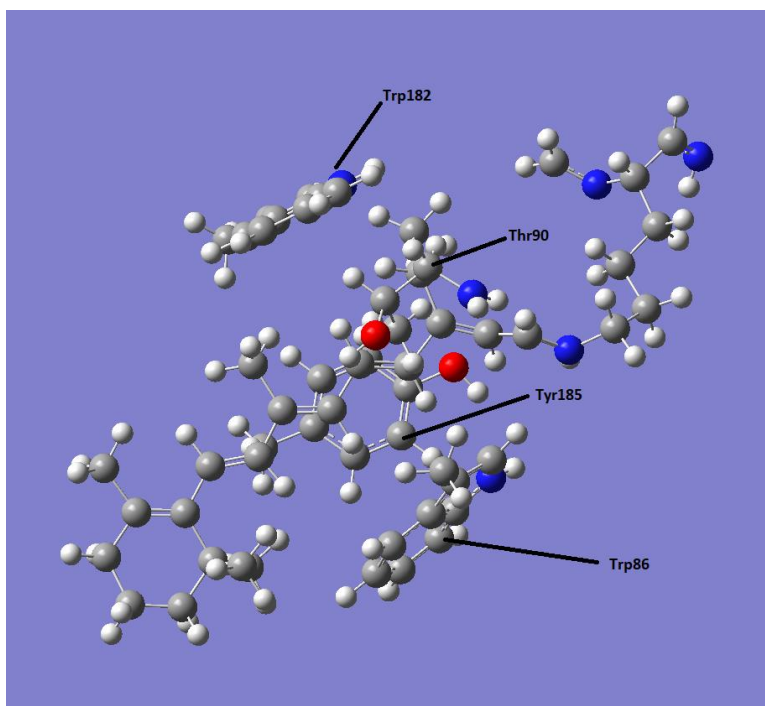
Kaip matome struktūra, visose temperatūrose, *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje išsilaiko apie  $\tau = 30$  fs, bet paskui pradeda kisti (kampas greitai nukeliamas link 0). Šie rezultatai parodo, kad vakuume

struktūros konfigūracija keičiasi greičiau nei turėtų, dėl to, buvo nuspręsta aplink esamą struktūrą, iš 2NTW kristolografines struktūros, pridėti Trp86, Trp182 bei Tyr185 ir atlikti molekulių dinamikos skaičiavimus tokiai sistemai, tačiau kilo problemų naujai suformuotos struktūros optimizavime, sužadintoje būsenoje. Optimizacijos metu, retinalis pasitraukdavo toliau nuo aplink jį esančių struktūrų, taip, kaip pavaizduota 13 pav.

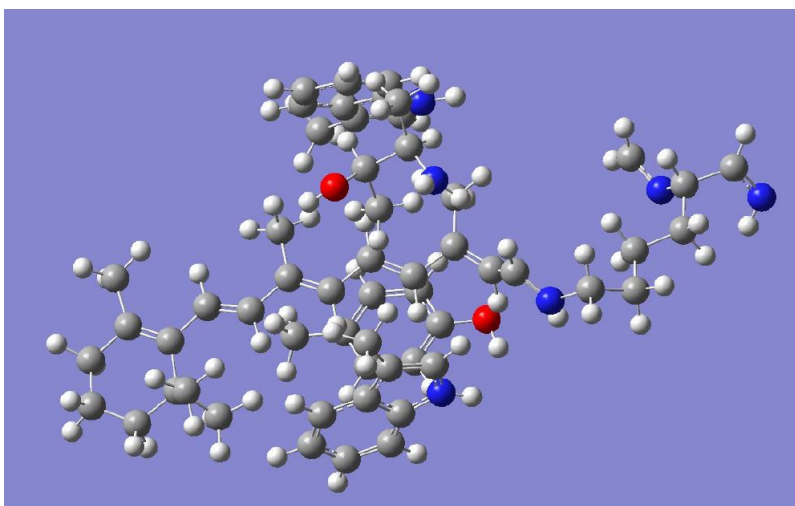


13 pav. Nesėkminga struktūros optimizacija sužadintoje būsenoje.

Dėl šios problemos nuspręsta, aplink retinalį, pridėti papildomą aminorūgštį Thr90, fiksuoti Trp86, Trp182, Tyr185 bei Thr90 ir šiai sistemai atlikti struktūros optimizaciją, sužadintoje būsenoje. Optimizacijos pradinė struktūra ir gauta struktūra pavaizduotos 14 ir 15 pav.

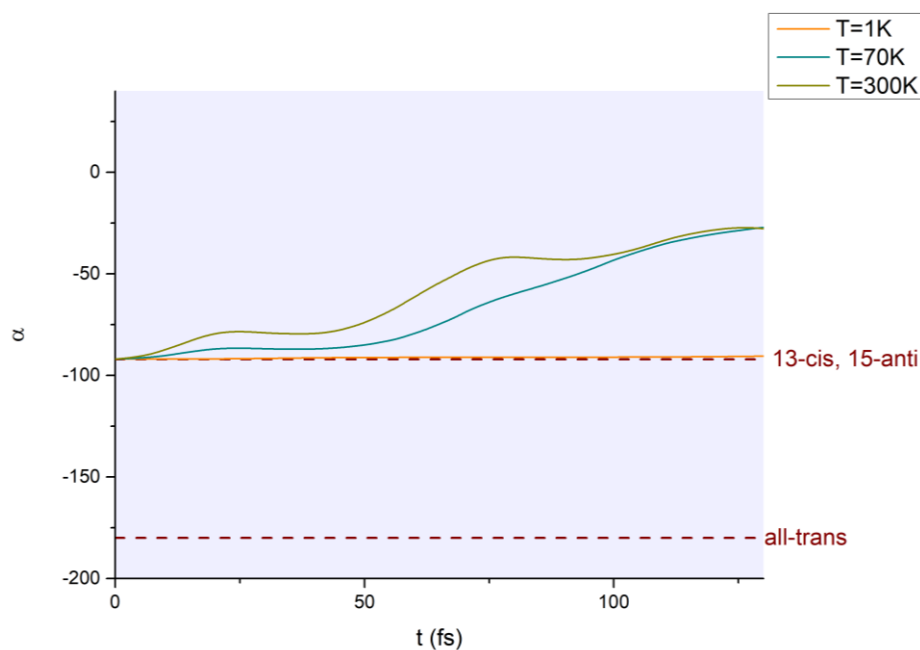


14 pav. Pradinė struktūra.



15 pav. Sužadintoje būsenoje suoptimizuota struktūra.

Šiai struktūrai, paleisti molekulių dinamikos skaičiavimai, fiksuojant Trp86, Trp182, Tyr185 bei Thr90. Gautas rezultatas pavaizduotas 16 pav.

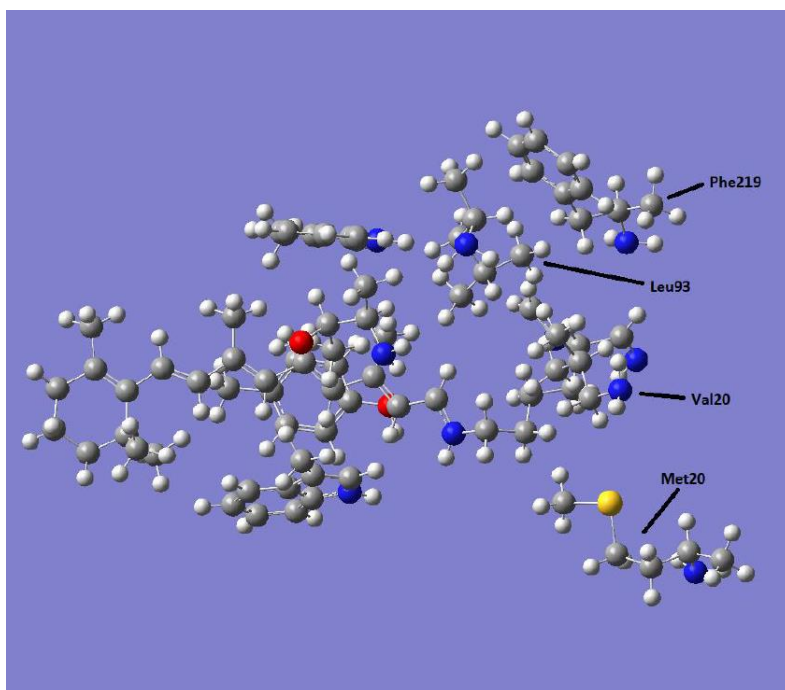


16 pav. Kampas  $\alpha$  priklausomybė nuo molekulių dinamikos laiko.

Iš šio grafiko matome, kad kai  $T = 1 \text{ K}$ , tada retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 130 \text{ fs}$  (prieš tai buvo apie  $30 \text{ fs}$ ), kai  $T = 70 \text{ K}$  arba  $T = 300 \text{ K}$ , tada konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 2 \text{ fs}$  (prieš tai buvo apie  $30 \text{ fs}$ ). Galima pastebėti, kad *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė pailgėjo kai  $T = 1 \text{ K}$ , tačiau šį rezultatą palyginus su bakteriorodopsino fotociklo būsenų trukmėmis, konfigūracijos trukmė vis tiek yra žymiai trumpesnė (žr. 2 pav.). Iš to galime daryti išvadą, kad aminorūgštys Trp86, Trp182, Tyr185 bei Thr90 esminės įtakos retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumui nedaro.

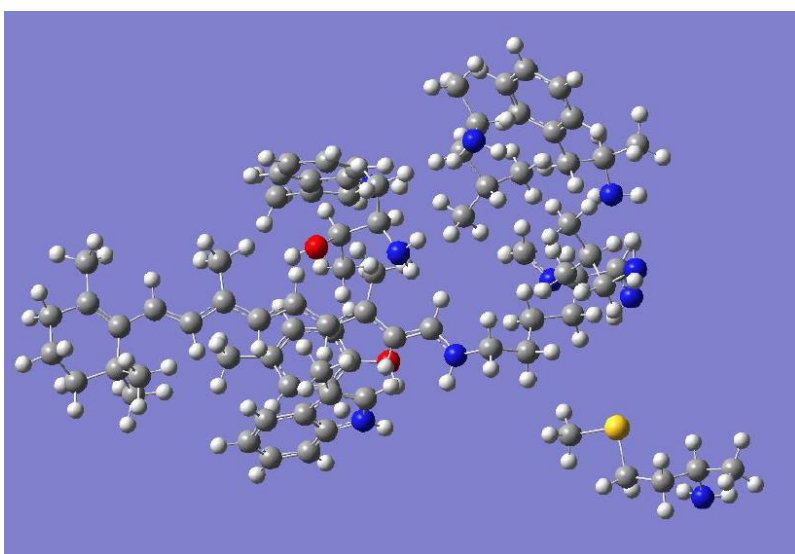
### 3.2.3 Pagrindinės būsenos skaičiavimai kartu su 8 struktūromis iš baltymo

Kadangi nepavyko gauti stabilių lokalių minimumų, kurie užvestų mus ant kelio, ieškant stabilios ir ilgiau negu  $\tau = 1 \text{ ps}$  trunkančios *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos, nusprendėme prie jau turimos, pagrindinės būsenos, struktūros (1C3W baltymas) pridėti ir fiksuoti: Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93, Phe219, atlikti struktūros optimizaciją pagrindinėje būsenoje ir gautą optimizuotą, pagrindinės būsenos, struktūrą naudoti rezultatų palyginime.



17 pav. Pridėtos papildomos struktūros iš baltymo.

Prie retinalio pridėjus papildomas 8 aminorūgštys, optimizacijos skaičiavimai, pagrindinėje būsenoje, pailgėjo apie 1-2 dienas, dėl to nusprendėme patikrinti ar skaičiavimai sutrumpėtų pasinaudojus ONIOM metodu. Atlikus skaičiavimus pastebėjome, kad šiuo atveju nėra didelio skirtumo, ar mes naudosis įprastą DFT, ar ONIOM, skaičiavimų trukmė abiem atvejais yra labai panaši, todėl nusprendėme, toliau skaičiavimuose ONIOM nenaudoti. Suoptimizuotas retinalis pavaizduotas 18 pav.

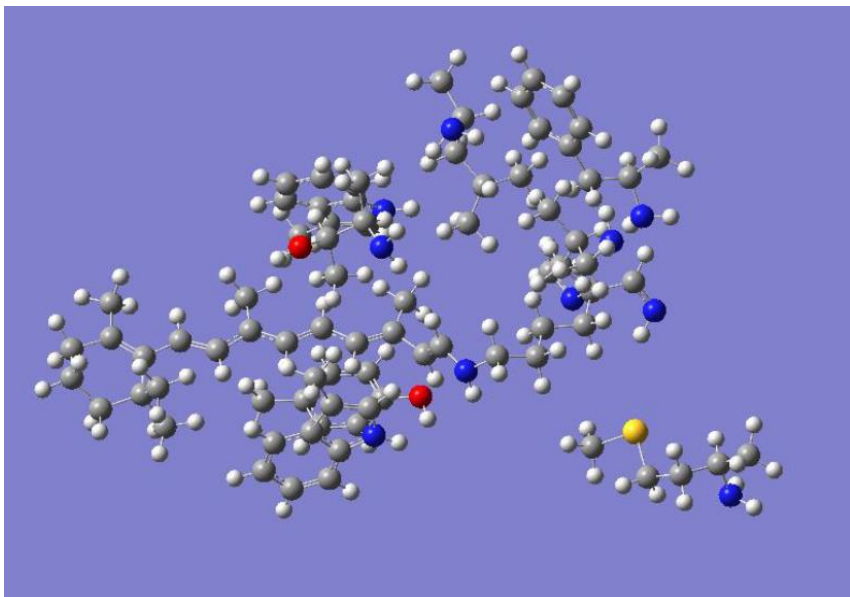


18 pav. Pagrindinėje būsenoje optimizuota struktūra.

Kaip matome, optimizuota struktūra yra *all-trans* konfigūracijoje. Toliau šie rezultatai buvo naudojami palyginimui su L būsenos, struktūros skaičiavimais.

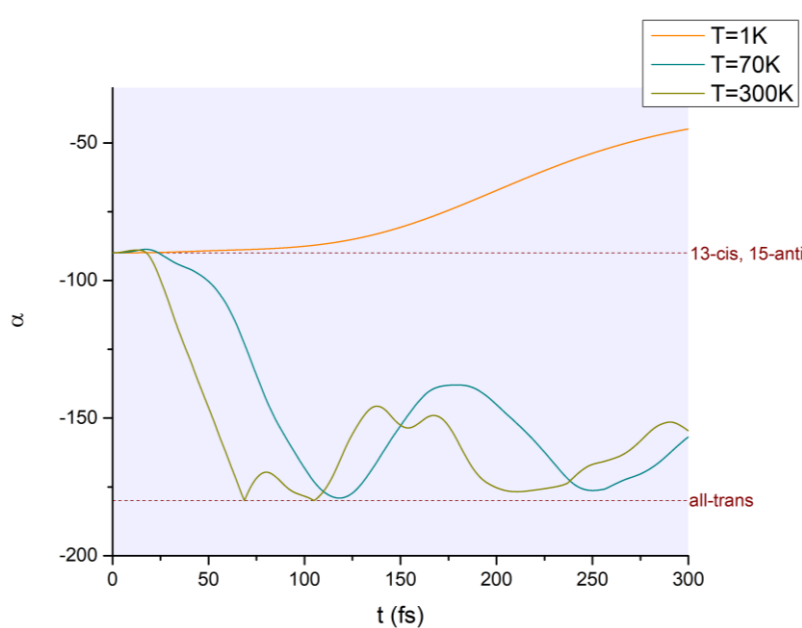
### 3.2.4 L būsenos skaičiavimai kartu su 8 struktūromis iš baltymo

Prie jau turimos sužadintos būsenos struktūros (2NTW baltymas) kurioje yra (retinalis, Lys216, Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90) papildomai pridėtos: Met20, Val20, Leu93 ir Phe219. Visa tiriamoji sistema (išskyrus retinalį) fiksuota ir atlikta optimizacija, sužadintoje būsenoje. Rezultatas pavaizduotas 19 pav.



19 pav. Sužadintoje būsenoje optimizuota L būsenos struktūra.

Matome, kad struktūra yra *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje. Toliau paleidome molekulių dinamikos skaičiavimus ir nubrėžėme kampo  $\alpha$  (žr. 11 pav.) priklausomybę, nuo molekulių dinamikos laiko. Rezultatas pavaizduotas 20 pav.

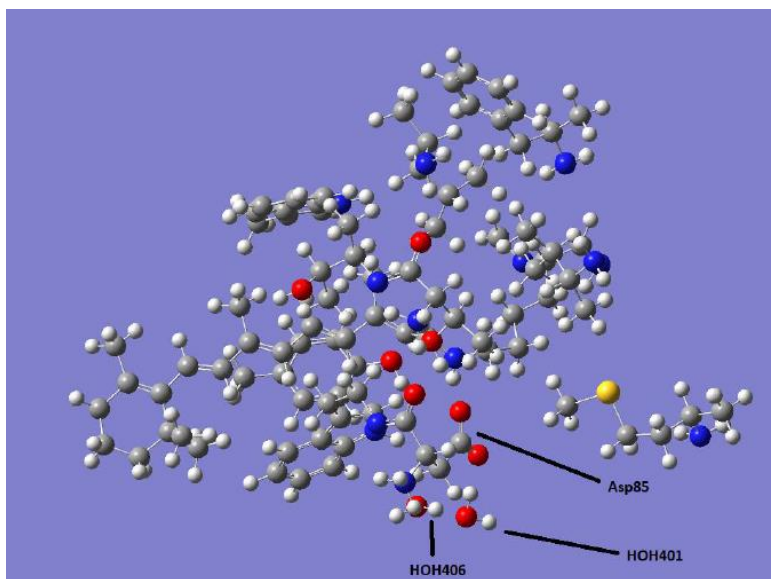


20 pav. Kampo  $\alpha$  priklausomybė nuo molekulių dinamikos laiko.

Kaip matome, kai  $T = 300$  K, *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė  $\tau = 15$  fs, kai  $T = 70$  K, tada  $\tau = 25$  fs ir kai  $T = 1$  K, tada  $\tau = 60$  fs. Iš to galime padaryti išvadą, kad papildomos struktūros esminės įtakos *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumui nedaro.

### 3.3 *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumo skaičiavimai

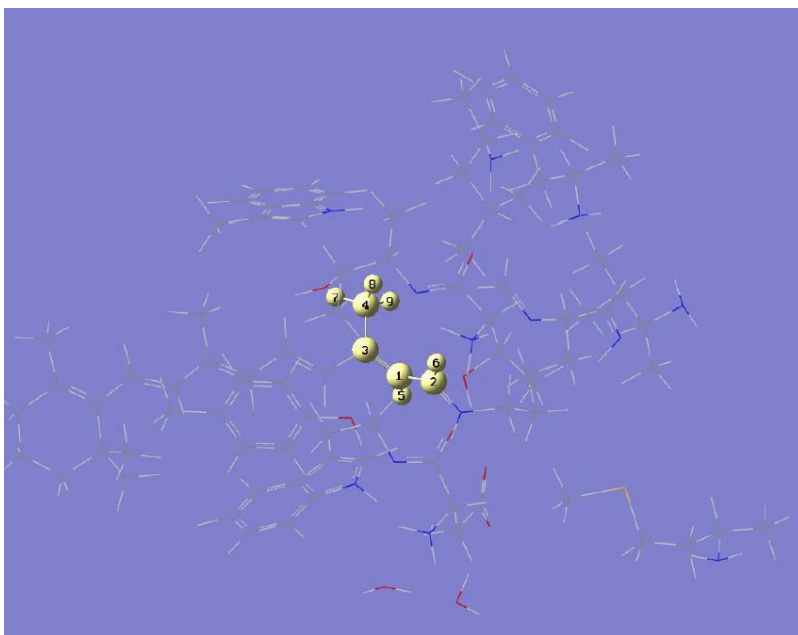
Prie jau esančių struktūrų (2NTW) pridėta dar viena papildoma aminorūgštis Asp85 ir 2 vandenys iš baltymo. Visa tai pavaizduota 21 pav.



21 pav. Pridėta papildoma struktūra ir 2 vandenys.

Asp85 yra labai svarbus protono pernašos procese, kadangi jis turi neigiamą krūvį ir yra pasiruošęs priimti protoną. Dėl to nusprendėme, kad galbūt Asp85 yra atsakingas už *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą. Toliau atlikome aplinkos vandenilių optimizaciją. Optimizacijos laikas buvo apie 3, 4 dienas. Sekantis žingsnis buvo patikrinti, kaip tvirtai aplinkinės struktūros laiko *13-cis*, *15-anti* konfigūraciją ir nuo kurio Šifo bazės ar Lys216 atomo prasideda konfigūracijos pokyčiai. Šiuo atveju aktyvusis centras jau yra *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje (kadangi 2NTW struktūra yra bakteriorodopsino L būsenoje), dėl to jo atskirai optimizuoti nereikia. Tokiai sistemai, užfiksavus aplinką ir paleidus optimizaciją, pagrindinėje būsenoje, aktyvaus centro konfigūracija pasikeičia į *all-trans*. Norėdami neleisti sistemai pereiti į *all-trans* konfigūraciją, užfiksavome absoliučiai visą tiriamą sistemą ir nefiksavome palikome tik tam tikrus atomus. Šiam skaičiavimui svarbūs atomai pavaizduoti 22 pav.





22 pav. Skaičiavime naudojami atomai.

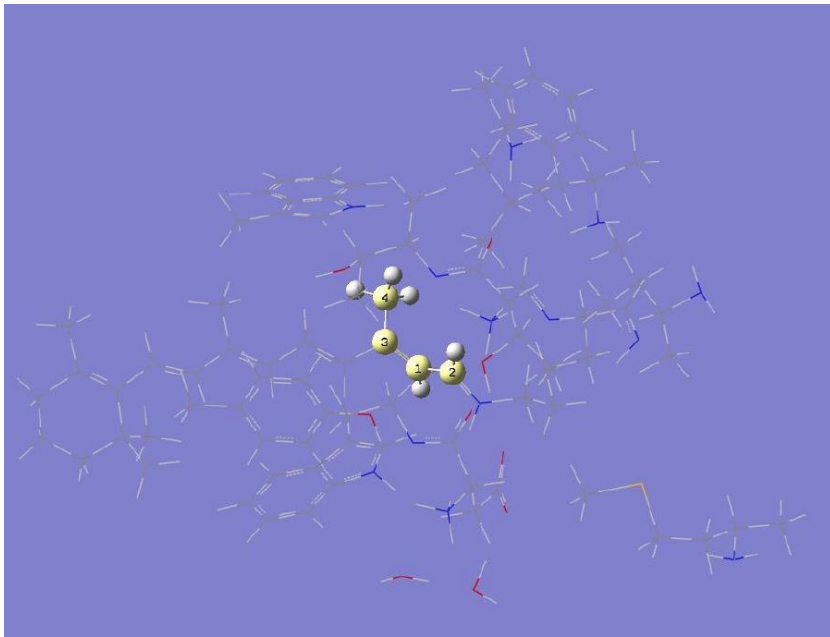
Toliau, 22 pav. pavaizduoti atomai buvo fiksuojami skirtingomis kombinacijomis ir paleidžiama struktūros optimizacija, pagrindinėje būsenoje. Skaičiavimų rezultatai pavaizduoti 2 lentelėje.

2 lentelė. Skaičiavimo rezultatai.

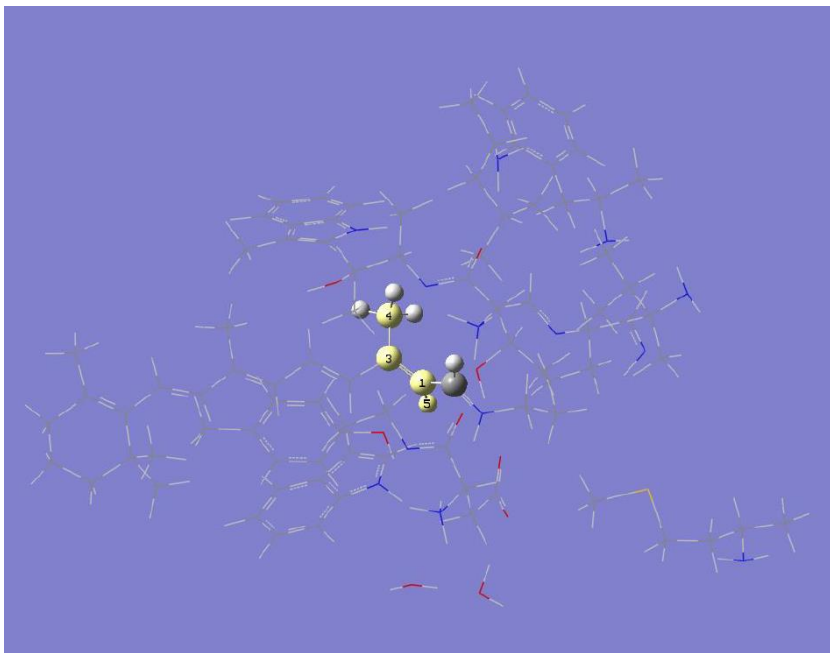
Nefiksuoti atomai	Konfigūracijos pokyčiai	$\alpha_1$	$\alpha_2$	E	$\Delta E$
1, 5	Taip	58,5894	-135,0732	-5307,3435	-0,0256
1, 2, 5, 6	Taip	44,8012	-155,3433	-5307,3742	-0,0563
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Taip	36,5160	-166,7165	-5307,3875	-0,0696
1	Ne	87,9665	-95,8374	-5307,3322	-0,0143
1, 2, 6	Ne	83,5507	-100,0488	-5307,3408	-0,0229
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9	Ne	66,3410	-124,1193	-5307,3622	-0,0443
5	Taip	87,6451	-128,3641	-5307,3287	-0,0108
2, 5, 6	Taip	58,4783	-151,1955	-5307,3658	-0,0479
2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Taip	47,2581	-158,5089	-5307,3791	-0,0612
2, 6	Ne	75,9936	-92,3852	-5307,3358	-0,0179
2, 3, 4, 6, 7, 8, 9	Ne	59,4104	-115,2804	-5307,3604	-0,0425

Šios lentelės skiltis „Nefiksuoti atomai“ parodo, kurie atomai šiame, pagrindinės būsenos, optimizacijos skaičiavime buvo nefiksuoti, visi kiti atomai buvo fiksuoti, skiltis „Konfigūracijos pokyčiai“ nurodo, ar optimizacijos metu struktūros konfigūracija pradėjo keistis iš *13-cis*, *15-anti* į *all-trans*,  $\alpha_1$  – yra dvisienio kampo, kurį sudaro atomai 4C, 3C, 1C, 2C (žr. 23 pav.), reikšmė,  $\alpha_2$  – yra dvisienio kampo, kurį sudaro atomai 4C, 3C, 1C, 5H (žr. 24 pav.), reikšmė, E – yra struktūros energija ir  $\Delta E$  – skirtumas tarp pagrindinėje būsenoje optimizuotos struktūros ir pradinės struktūros energijų. Pradinės struktūros (prieš 2 lentelėje nurodytus skaičiavimus) parametrai:  $E = -5307,3179$ ;  $\alpha_1 = 87,6228$  ir  $\alpha_2 = -92,3929$ .



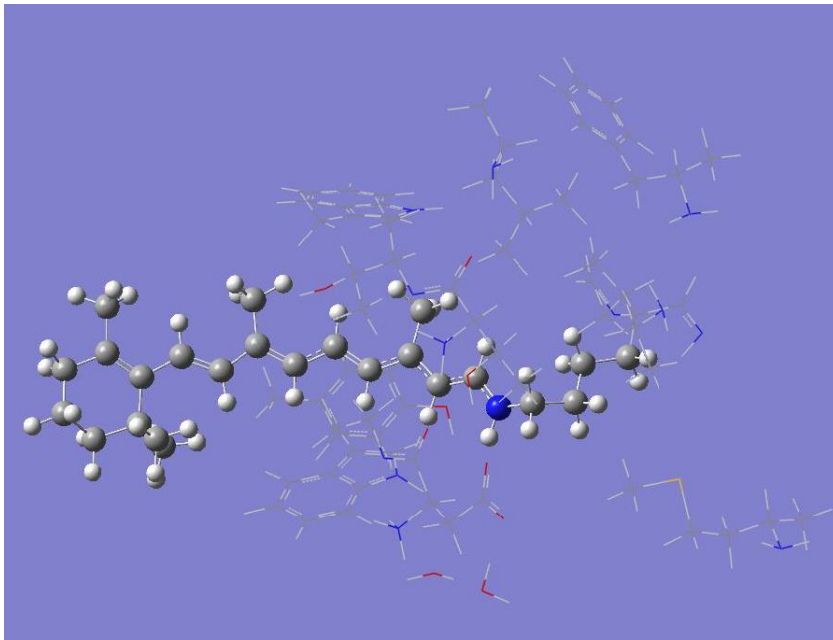


23 pav.  $\alpha_1$  dvisienį kampą sudarantys atomai.

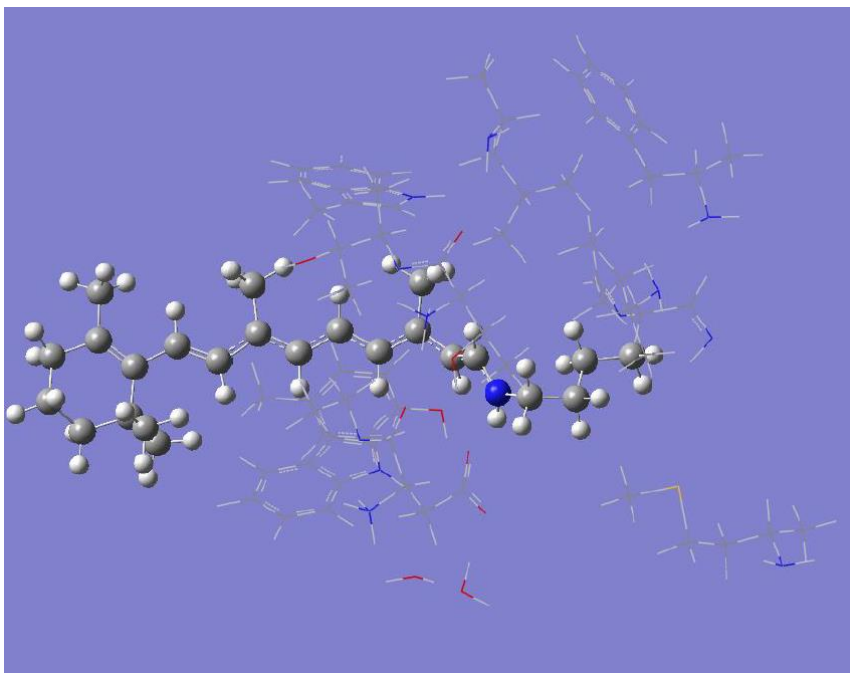


24 pav.  $\alpha_2$  dvisienį kampą sudarantys atomai.

Kaip matome iš 2 lentelės, konfigūracijos pokyčiai vyksta tik tada, kada 5H atomas nėra fiksuojamas. Kitaip tariant, galima daryti hipotezę, kad 5H atomas yra svarbus *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilume. Norint patikrinti šią hipotezę, nusprendėme fiksuoti visus aplinkinius darinius iš baltymo: Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93 ir Phe219 bei 5H atomą ir atlikti struktūros, pagrindinės būsenos, optimizaciją. Optimizacijos rezultatas kai 5H nefiksuotas pavaizduotas 25 pav., o rezultatas kai 5H fiksuotas pavaizduotas 26 pav.



25 pav. Struktūros optimizacija, kai 5H nefiksuotas.



26 pav. Struktūros optimizacija, kai 5H fiksuotas.

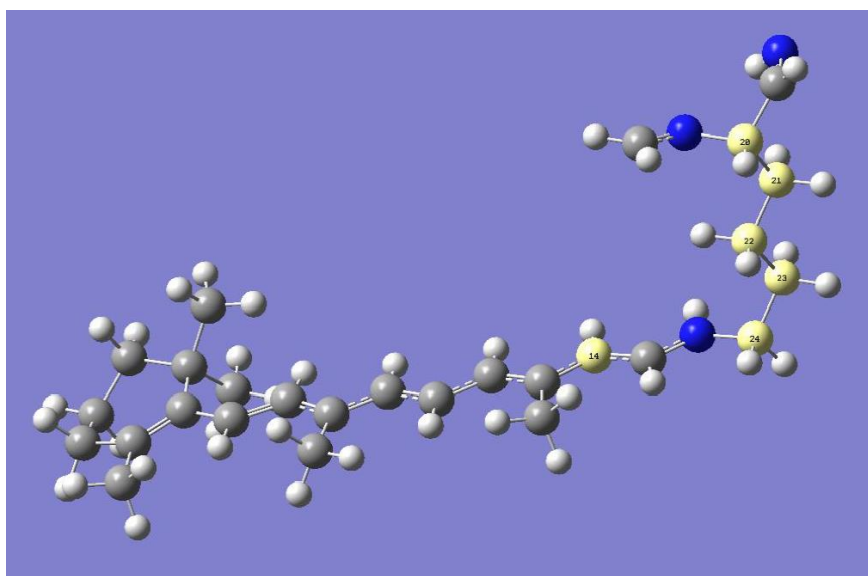
25 pav. struktūros  $\alpha_1 = 23,814$ ,  $\alpha_2 = -167,9969$ , o  $E = -5307,518$ . 26 pav. struktūros  $\alpha_1 = 53,6075$ ,  $\alpha_2 = -137,8515$ , o  $E = -5307,4863$ . Kaip matome, kai 5H yra fiksuotas struktūra pasilieka *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje. Mūsų hipotezė pasitvirtino, bet norint iki galo įsitikinti, reikia pabandyti užfiksuoti kitus vandenilius ir pasižiūrėti, ar struktūra pereis į *all-trans* konfigūraciją (galbūt visi retinalio vandeniliai yra labai svarbūs ir juos užfiksuojus bus visada išlaikoma *13-cis*, *15-anti* konfigūracija).

### 3.4 Šifo bazės ir Lys216 sukimas

Nusprendėme, kad norint nustatyti aplinkines struktūras, kurios atsakingos už *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą, būtų naudinga iširti ties kuria vieta sukasi molekulė, kai vyksta jos konfigūracijos pokyčiai. Literatūroje nurodoma, kad kai keičiasi retinalio konfigūracija, sukasi jo Šifo bazė, tačiau mums kilo mintis, kad galbūt esant retinalio konfigūracijos pokyčiams, sukasi ne tik Šifo bazė, bet ir kažkuri dalis iš baltymo. Nusprendėme tai patikrinti 1C3W ir 2NTW struktūrose. 1C3W struktūra optimizuota pagrindinėje būsenoje, o 2NTW struktūra optimizuota sužadintoje būsenoje.

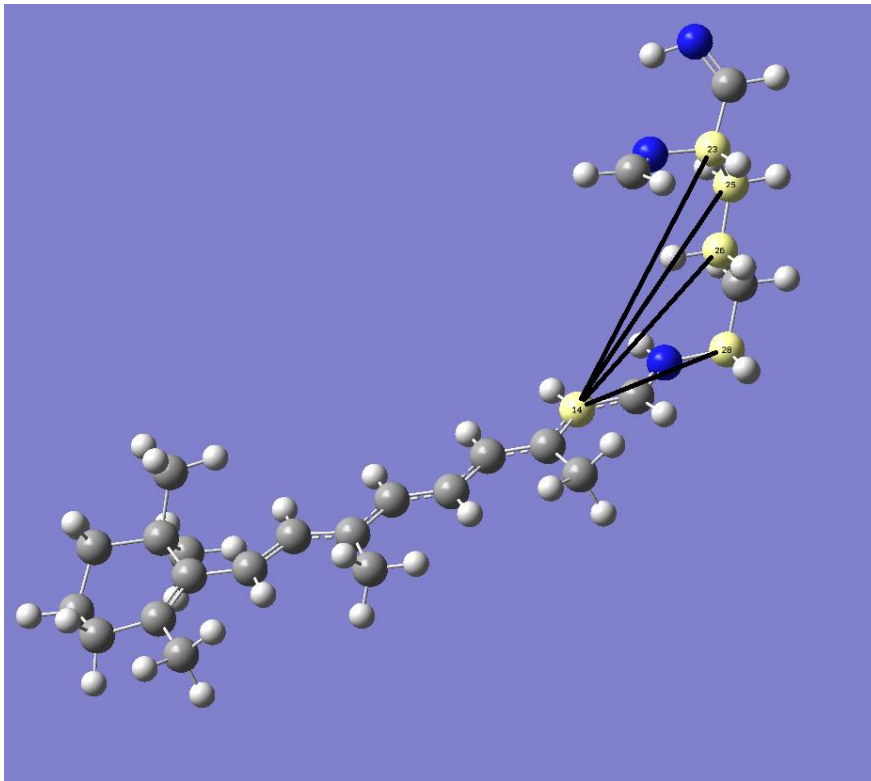
#### 3.4.1 1C3W skaičiavimai

Išsirinkome atomus kurie dalyvaus sukimo procese. Šie atomai pavaizduoti 27 pav.



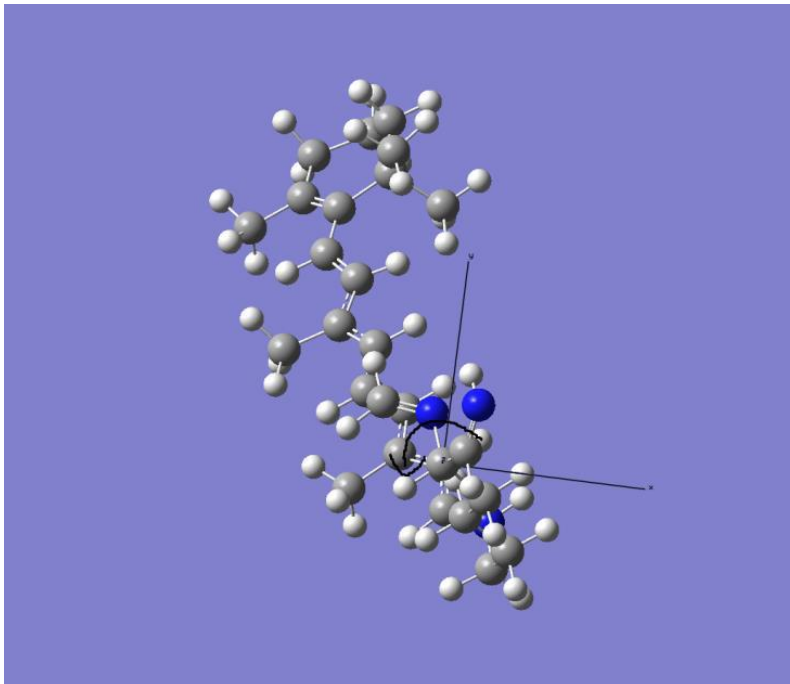
27 pav. Sukime dalyvaujantys atomai.

Toliau buvo formuojamos 5 atskiros struktūros kur koordinacių sistemos (0;0;0) taškas buvo vienas iš 27 pav. pavaizduotų 5 atomų (24C, 23C, 22C, 21C, 20C), o koordinacių sistemos Z ašis ėjo tiesiai per 14C, kitaip tariant 14C buvo taške (0;0;1), čia 1 – yra perskaičiuota Z ašies koordinatė, kai nurodoma, kad 14C turi būti  $X = 0$  ir  $Y = 0$ . Pavyzdys pateiktas 28 pav.



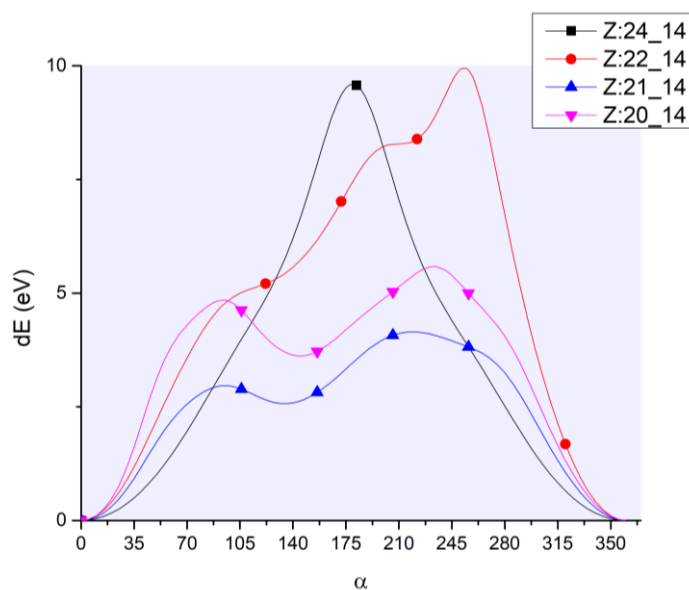
28 pav. Z ašys apie kurias buvo atliekamas sukimas.

Suformavus 5 atskiras struktūras kiekvienai iš jų buvo atliekamas sukimas apie Z ašį (prieš laikrodžio rodyklę, kai Z ašis žiūri į mus), taip, kaip pavaizduota 29 pav.



29 pav. Kampo sukimas prieš laikrodžio rodyklę.

Buvo sukama 360 laipsnių, kas 5 laipsnius (lokaliuose minimumuose kas 1 laipsnį) ir skaičiuojamas pasuktos struktūros ir pirminės struktūros energijos skirtumas (žr. 30 pav.).



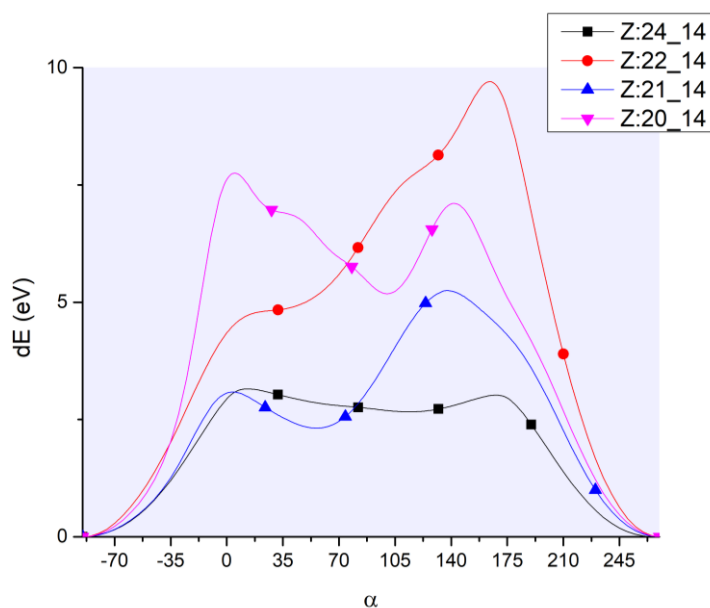
30 pav. Energijos priklausomybė, nuo posūkio kampo  $\alpha$ .

Čia Z:24\_14 – nurodo, kad 24C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;3,7876), Z:22\_14 – nurodo, kad 22C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;4,8435), Z:21\_14 – nurodo, kad 21C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;6,206) ir Z:20\_14 nurodo, kad 20C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;-6,9005).

Kaip matome, kai  $\alpha = (130, 135, 145, 220)$  gauname lokalius minimumus, tačiau atliekant optimizaciją šiuose minimumuose, struktūra nukeliauja į globalų minimumą  $\alpha = 0$ . Tai reiškia, kad šie minimumai yra labai nestabilūs. Toliau nusprendėme tą patį pakartoti su 2NTW struktūra ir pasižiūrėti kokie skirtumai atsiranda.

### 3.4.2 Būsenos L skaičiavimai naudojant 2NTW struktūrą

Kaip ir prieš tai išsirinkome atomus kurie dalyvaus sukimo procese. Šie atomai pavaizduoti 27 pav. Tuomet viskas buvo daroma lygiai taip pat kaip prieš tai. Rezultatas pavaizduotas 31 pav.



31 pav. Energijos priklausomybė, nuo posūkio kampo  $\alpha$ .

Čia Z:24\_14 – nurodo, kad 24C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;3,7742), Z:22\_14 – nurodo, kad 22C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0; 4,8873), Z21\_14 – nurodo, kad 21C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;6,2599) ir Z20\_14 nurodo, kad 20C yra taške (0;0;0), o 14C yra taške (0;0;6,9327). Iš šio paveikslo matome, kad kai  $\alpha = (210, 220, 240, 280, 295, 310)$  gauname lokalius minimumus, tačiau šiuose minimumuose atliekant optimizaciją, struktūra sugrįžta į globalų minimumą, kas parodo, kad konfigūracija šiuose taškuose yra labai nestabili.

### 3.5 Rezultatai ir jų aptarimas

Bakteriorodopsino fotociklo schemoje (žr. 2 pav.) galima pastebėti, kad perėjimo iš **bR** į **K** būseną trukmė  $\tau \approx 4$  ps, iš **K** į **L** trukmė  $\tau \approx 1$   $\mu$ s, o iš **L** į **M1** trukmė  $\tau \approx 40$   $\mu$ s, tačiau pastebėta, kad atliekant molekulių dinamikos skaičiavimus, kai pradinė retinalio struktūra yra L būsenoje (*13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje) struktūra per kelias fs ima keistis į *all-trans* konfigūraciją.[1]

Šio darbo šio darbo pagrindiniai tikslai yra įvertinti retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą iki 1 ps, nustatyti ties kuria vieta sukasi retinalio molekulė, esant jos konfigūracijos pokyčiams, nustatyti kurios struktūros iš bakteriorodopsino baltymo įtakoja retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą.

Iš 1C3W bakteriorodopsino struktūros iškirpta retinalio molekulė (aktyvus bakteriorodopsino centras) kartu su Lys216, pridėti vandeniliai (žr. 7 pav.) ir atlikta struktūros optimizacija, pagrindinėje būsenoje (žr. 8 pav.). Gauta optimizuota struktūra naudojama rezultatų palyginimui su sužadintos būsenos retinaliu.

Iš 2NTW bakteriorodopsino struktūros iškirpta retinalio molekulė (aktyvus bakteriorodopsino centras) kartu su Lys216, pridėti vandeniliai (žr. 9 pav.) ir paleista struktūros optimizacija, sužadintoje būsenoje (žr. 10 pav.).

Paleidus bakteriorodopsino aktyviojo centro optimizaciją, sužadintoje būsenoje, iškirpto iš 2NTW baltymo, retinalio konfigūracija yra *13-cis*, *15-anti*. *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos įvertinimui

toliau buvo atliekami molekulių dinamikos skaičiavimai, kurių metu buvo stebimas pasirinkto kampo  $\alpha$  kitimas, laikui bėgant. Kampą  $\alpha$  sudarantys atomai ir skaičiavimo rezultatai pavaizduoti 11 ir 12 pav. Visose temperatūrose, *13-cis*, *15-anti* konfigūracija išsilaiko apie 30 fs, bet paskui pradeda kisti (kampas greitai nukeliauja link 0). Šie rezultatai parodo, kad vakuume struktūros konfigūracija keičiasi greičiau nei turėtų, dėl to, buvo nuspręsta aplink esamą struktūrą iš 2NTW kristolografines struktūros pridėti papildomas aminorūgštys iš baltymo. Atlikus molekulių dinamikos skaičiavimus kartu su Trp86, Trp182, Tyr185 ir Thr90 gavome, kad kai  $T = 1$  K, tada retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 130$  fs (prieš tai buvo apie  $\tau = 30$  fs), kai  $T = 70$  K arba  $T = 300$  K, tada konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 2$  fs (prieš tai buvo apie 30 fs). Galima pastebėti, kad *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė pailgėjo kai  $T = 1$  K, tačiau šį rezultatą palyginus su bakteriorodopsino fotociklo būsenų trukmėmis, konfigūracijos trukmė vis tiek yra žymiai trumpesnė (žr. 2 pav.). Iš to galime daryti išvadą, kad Trp86, Trp182, Tyr185 bei Thr90 esminės įtakos retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumui nedaro. Atlikus molekulių dinamikos skaičiavimus kartu su Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93 ir Phe219 gavome, kad kai  $T = 300$  K, *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė  $\tau = 15$  fs, kai  $T = 70$  K, tada  $\tau = 25$  fs ir kai  $T = 1$  K, tada  $\tau = 60$  fs. Iš to galime padaryti išvadą, kad Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93 ir Phe219, esminės įtakos *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumui nedaro.

Nusprendėme, kad norint nustatyti aplinkines struktūras, kurios atsakingos už *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą, būtų naudinga iširti ties kuria vieta sukasi molekulė kai vyksta jos konfigūracijos pokyčiai. Literatūroje nurodoma, kad kai keičiasi retinalio konfigūracija, sukasi jo Šifo bazė, tačiau mums kilo mintis, kad galbūt esant retinalio konfigūracijos pokyčiams sukasi ne tik Šifo bazė, bet ir kažkuri dalis iš baltymo. Nusprendėme tai patikrinti 1C3W ir 2NTW struktūrose. 1C3W struktūra optimizuota, pagrindinėje būsenoje, o 2NTW struktūra optimizuota, sužadintoje būsenoje. Kaip matome 30 pav., kai  $\alpha = (130, 135, 145 \text{ ir } 220)$  gauname lokalius minimumus, tačiau atliekant optimizaciją šiuose minimumuose, struktūra nukeliauja į globalų minimumą  $\alpha = 0$ . Tai reiškia, kad šie minimumai yra labai nestabilūs. Iš 31 pav. matome, kad kai  $\alpha = (220, 210, 240, 280, 295, 310)$  gauname lokalius minimumus, tačiau šiuose minimumuose atliekant optimizaciją, struktūra sugrįžta į globalų minimumą kuris yra  $\alpha = 0$ . Tai parodo, kad šie lokalūs minimumai yra labai nestabilūs. Abiem atvejais nepavyko nustatyti stabilių lokalių minimumų, dėl to nusprendėme patikrinti *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą. Prie jau turimos struktūros (iš 2NTW) buvo pridėta dar viena papildoma struktūra ir 2 vandenys iš baltymo (2NTW). Ši struktūra ir 2 vandenys pavaizduoti 21 pav. Sekantis žingsnis buvo patikrinti, kaip tvirtai aplinkinės struktūros laiko *13-cis*, *15-anti* konfigūraciją ir nuo kurio Šifo bazės ar Lys216 atomo prasideda konfigūracijos pokyčiai. Šiuo atveju aktyvusis centras jau yra *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje (kadangi 2NTW struktūra yra bakteriorodopsino L būsenoje) dėl to jo atskirai optimizuoti nereikia. Tokiai sistemai, užfiksavus aplinką ir paleidus optimizaciją pagrindinėje būsenoje, aktyvaus centro konfigūracija pasikeičia į *all-trans*. Norėdami neleisti sistemai pereiti į *all-trans* konfigūraciją užfiksavome absoliučiai visą tiriamą sistemą ir nefiksuotus palikome tik tam tikrus atomus. Šiam skaičiavimui svarbūs atomai pavaizduoti 22 pav. Toliau, 22 pav. pavaizduoti atomai buvo fiksuojami skirtingomis kombinacijomis ir paleidžiama struktūros optimizacija, pagrindinėje būsenoje. Skaičiavimų rezultatai pavaizduoti 2 lentelėje. Kaip matome iš 2 lentelės, konfigūracijos pokyčiai vyksta tik tada, kada 5H ato-

mas nėra fiksuojamas. Kitaip tariant galima teigti, kad 5H atomas yra svarbus *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilume. Norint tai patikrinti, nusprendėme fiksuoti visus aplinkinius darinius iš baltymo: Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93 ir Phe219 bei 5H atomą ir atlikti struktūros, pagrindinės būsenos, optimizaciją. Optimizacijos rezultatas kai 5H nefiksuotas pavaizduotas 25 pav., o rezultatas kai 5H fiksuotas pavaizduotas 26 pav. 25 pav. struktūros  $\alpha_1 = 23,814$ ,  $\alpha_2 = -167,9969$ , o  $E = -5307,518$ . 26 pav. struktūros  $\alpha_1 = 53,6075$ ,  $\alpha_2 = -137,8515$ , o  $E = -5307,4863$ . Kai 5H yra fiksuotas struktūra pasilieka *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje. Iš to galima spręsti, kad 5H gali daryti nemažą įtaką konfigūracijos stabilumui.

Kompilijuojant Nwchem paketą didžiausias našumas pasiektas su nwchem\_7.0.2\_intel\_mpi\_blas\_pr.



## Pagrindiniai rezultatai ir išvados

1. Retinalio konfigūracija *13-cis*, *15-anti*, tiek vakuume, tiek su Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90 išsilaiko apie  $\tau = 30$  fs, esant skirtingoms temperatūroms. Temperatūra esminės įtakos retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmei nedaro.
2. Prie retinalio pridėjus Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90 ir atlikus molekulių dinamiką, gavome, kad kai  $T = 1$  K, tada retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 130$  fs, kai  $T = 70$  K arba  $T = 300$  K, tada konfigūracijos trukmė yra apie  $\tau = 2$  fs. Prie retinalio papildomai pridėjus Met20, Val20, Leu93, Phe219 ir atlikus molekulių dinamiką, gavome, kad kai  $T = 300$  K, *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos trukmė  $\tau = 15$  fs, kai  $T = 70$  K, tada  $\tau = 25$  fs ir kai  $T = 1$  K, tada  $\tau = 60$  fs. Galime daryti išvadą, kad šios papildomos aminorūgštys (Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90, Met20, Val20, Leu93, Phe219) didelės įtakos retinalio stabilumui nedaro.
3. Sukant retinalio Šifo bazę ir Lys216 gavome, kad lokalūs minimumai egzistuoja taškuose  $\alpha = (130, 135, 145, 210, 220, 240, 280, 295)$ . Šiuose taškuose paleidus optimizaciją struktūra pereina į *all-trans* konfigūraciją, dėl to galime daryti išvadą, kad šie taškai yra labai nestabili.
4. Tiriant *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumą nustatėme, kad 5H atomas (žr. 22 pav.) gali turėti didelę įtaką retinalio stabilumui, nes jį užfiksavus retinalis visada likdavo *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje. Paleidus visos struktūros optimizaciją ir užfiksavus visas aplinkos struktūras kartu su 5H, retinalis liko *13-cis*, *15-anti* konfigūracijoje. Tikėtina, kad 5H atomas daro nemažą įtaką retinalio *13-cis*, *15-anti* konfigūracijos stabilumui.
5. Kompilijuojant Nwchem paketą didžiausias našumas pasiektas su `nwchem_7.0.2_intel_mpi_blas_pr`.

## Literatūra

1. Wickstrand, Cecilia & Dods, Robert & Royant, Antoine & Neutze, Richard. (2014). Bacteriorhodopsin: Would the real structural intermediates please stand up?. *Biochimica et biophysica acta*. 1850. 10.1016/j.bbagen.2014.05.021.
2. Mindaugas Macernis, Lev Mourokh, Ligitas Vinciunas and Leonas Valkunas. Mechanism of Proton Transfer in Bacteriorhodopsin. *The Journal of Chemical Physics* (recenzuojamas).
3. Babitzki G, Mathias G, Tavan P. The infrared spectra of the retinal chromophore in bacteriorhodopsin calculated by a DFT/MM approach. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2009 Jul 30;113(30):10496-508. doi: 10.1021/jp902432e. PMID: 19580300.
4. Frank Terstegen, Volker Buß, Influence of DFT-calculated electron correlation on energies and geometries of retinals and of retinal derivatives related to the bacteriorhodopsin and rhodopsin chromophores, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, Volume 430, 1998, ISSN 0166-1280.
5. Ligitas Vinciūnas. Bakteriorodopsino aktyvaus centro energetinių paviršių modeliavimas ir skaičiavimas su molekulių dinamika. Mokslo tiriamasis darbas, 2022.
6. Ligitas Vinciūnas. Bakteriorodopsino baltymo aktyvaus centro modeliavimas naudojant molekulių dinamika. Mokslo tiriamasis darbas, 2021.
7. Ernst OP, Lodowski DT, Elstner M, Hegemann P, Brown LS, Kandori H. Microbial and animal rhodopsins: structures, functions, and molecular mechanisms. *Chemical Reviews*. 2014 Jan 8;114(1):126-63. doi: 10.1021/cr4003769. Epub 2013 Dec 23. PMID: 24364740; PMCID: PMC3979449.
8. Chang, Raymond (1998). *Chemistry*, 6th Ed.. New York: McGraw Hill., 1040, ISBN 0-07-115221-0.
9. Larkum, A.W.D., Ritchie, R.J., & Raven, J.A. (2018). Living off the Sun: chlorophylls, bacteriochlorophylls and rhodopsins. *Photosynthetica*, 56(SPECIAL ISSUE), 11-43. doi: 10.1007/s11099-018-0792-x.
10. Jin, Yongdong & Honig, Tal & Ron, Izhar & Friedman, Noga & Sheves, Mordechai & Cahen, David. (2008). Bacteriorhodopsin as an electronic conduction medium for biomolecular electronics. *Chemical Society reviews*. 37. 2422-32. 10.1039/b806298f.
11. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory 2nd Ed - Wolfram Koch*, 313, ISBN: 978-3-527-30372-4.
12. Schlegel, H. & Iyengar, Srinivasan & Li, Xiaosong & Millam, John & Voth, Gregory & Scuseria, Gustavo & Frisch, Michael. (2002). Ab initio molecular dynamics: Propagating the density matrix with Gaussian orbitals. III. Comparison with Born–Oppenheimer dynamics. *The Journal of Chemical Physics*. 117. 8694-8704. 10.1063/1.1514582.
13. Lung Wa Chung, W. M. C. Sameera, Romain Ramozzi, Alister J. Page, Miho Hatanaka, Galina P. Petrova, Travis V. Harris, Xin Li, Zhuofeng Ke, Fengyi Liu, Hai-Bei Li, Lina Ding, and Keiji Morokuma. The ONIOM Method and Its Applications, *Chemical Reviews* 2015 115 (12), 5678-5796, DOI: 10.1021/cr5004419.
14. Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M.

- Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
15. GaussView, Version 6.1, Roy Dennington, Todd A. Keith, and John M. Millam, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016.
  16. Protein data bank <https://www.rcsb.org/>.

# BACTERIORHODOPSIN ACTIVE CENTER RETINAL MOLECULE STUDY WITH MOLECULAR DYNAMICS

Ligitas Vinciūnas

## Summary

Bacteriorhodopsin is a protein responsible for proton transfer across cell membrane. To activate this function (proton transfer) light energy is required. Bacteriorhodopsin was discovered 40 years ago in organism named *Halobacterium salinarum*.

In bacteriorhodopsin active center there is retinal molecule. Its configuration changes (from *all-trans* to *13-cis*, *15-anti*) allow proton transfer process to occur.

There are a lot of methods used for bacteriorhodopsin modeling. The most popular methods are DFT (density functional theory) and ADMP (ab-initio molecular dynamics). A lot of studies use those methods, because they are pretty fast and accurate. Because of that, we used these methods in this work.

In nature retinal *13-cis*, *15-anti* configuration is very stable, and its duration is more than 1 ps (we can see it from bacteriorhodopsin photocycle). But molecular dynamics calculations show, that its duration is around 30 fs. There is a big difference between the theoretical calculations and observations.

This work main objective is to evaluate stability of retinal *13-cis*, *15-anti* configuration.

First, we decided to check how stable is retinal *13-cis*, *15-anti* configuration by running molecular dynamics calculations in 3 temperatures (1 K, 70 K and 300 K) in vacuum and with residues: Trp86, Trp182, Tyr185, Thr90. We got that in vacuum *13-cis*, *15-anti* configuration duration for all temperatures is 30 fs, and with residues configuration duration for 70 K, and 300 K is 30 fs, and for 1 K is 130 fs. Then we decided to add more residues: Met20, Val20, Leu93, Phe219, and run same molecular dynamics calculations. We got that when temperature is 300 K, *13-cis*, *15-anti* configuration duration is 15 fs, when 70 K, configuration duration is 25 fs, and when 1 K, configuration duration is 60 fs. We can see that in all cases, these residues does not affect retinal *13-cis*, *15-anti* configuration stability.

Then we decided to check which part of Schiff base rotates when retinal configuration changes occur. By rotating retinal Schiff base we got, that there are local minimums at  $\alpha = (130, 135, 145, 210, 220, 240, 280, 295)$ , but when we tried to optimize our system at these points, structure went to global minimum point. This means, that these points are very unstable.

Next, we decided to evaluate *13-cis*, *15-anti* configuration stability, by fixing all system atoms but few (with specific combinations). We got, that 5H atom could have some influence on *13-cis*, *15-anti* configuration stability. We tried to optimize system (ground state) when 5H was fixed, and when it was not fixed. When 5H was not fixed, retinal changed its configuration to all-trans, when 5H was fixed, retinal remained at *13-cis*, *15-anti* configuration.

And finally we wanted to run molecular dynamics calculations using Nwchem packet. We compiled a lot of Nwchem versions with different parameters. The fast Nwchem version was wchem\_7.0.2\_intel\_mpi\_blas\_pr.