

Vilniaus universitetas
Fizikos fakultetas
Cheminės fizikos institutas

Sandra Barysaitė

FOTOSINTETINIO ŠVIESORANKOS KOMPLEKSO CP29 MOLEKULIŲ DINAMIKA

MAGISTRANTŪROS STUDIJŲ BAIGIAMASIS DARBAS

Teorinės fizikos ir astrofizikos studijų programa

Studentas

Sandra Barysaitė

Leista ginti

2024-05-24

Darbo vadovas

doc. Andrius Gelžinis

Instituto direktorius

prof. Darius Abramavičius

Vilnius 2024

Turinys

Įvadas	3
1 Molekulių dinamika	5
1.1 Energijos minimizacija	6
1.1.1 Staigiausiojo nuolydžio metodas	6
1.1.2 Sujungtinio gradiento metodas	7
1.2 MD simuliacija	7
1.3 Jėgų laukai	8
1.3.1 Jėgų lauko parametrai karotenoidams	10
1.3.2 Jėgų lauko parametrai chlorofilams	11
2 Nuo laiko priklausanti tankio funkcionalo teorija (TD-DFT)	13
2.1 Bazinės funkcijos	15
2.2 Pakaitinės-koreliacinės energijos funkcionalai	16
3 Metodika	17
4 Rezultatai ir jų aptarimas	21
4.1 Pigmentų poslinkiai po CP29 komplekso energijos minimizacijos ir relaksacijos . . .	21
4.2 MD trajektorijos RMSD analizė	22
4.3 Chlorofilų dimerų dinamika ir CT būsenos	24
4.3.1 Atstumai tarp dimerus sudarančių chlorofilų	24
4.3.2 Dvisieniai kampai	26
4.3.3 Krūvio pernašos būsenos	26
Rezultatų apibendrinimas ir išvados	31
Padėkos	32
Literatūra	33
Priedas	39
Summary	40

Įvadas

Fotosintezės šviesinės reakcijos prasideda pirmojoje ir antrojoje fotosistemose (PSI ir PSII, angl. *photosystem I and II*), kurios yra aptinkamos chloroplastų tilakoidų membranose. Šiose fotosistemose vyksta šviesos surinkimas bei sužadavimo energijos pernaša iš anteninių šviesorankos kompleksų į reakcijų centrus [1, 2]. Nepaisant to, kad abi fotosistemos sugeria šviesą ir yra sudarytos iš baltymų bei pigmentų, jos turi nemažai skirtumų – nuo savo dydžio ir padėties membranoje iki skirtingų sugeriamos šviesos bangos ilgių, o vienas pagrindinių skirtumų yra tas, kad PSII vyksta vandens oksidacija, kurios metu išsiskiria deguonies molekulės, protonai ir elektronai [3]. Kai chlorofilo molekulė fotosistemoje yra sužadinta, į pagrindinę būseną ji gali relaksuoti perduodama savo sužadavimo energiją į reakcijų centrą, fluorescuoti, arba peršokti į žemesnės energijos – tripletinę – sužadintą būseną. Antrojoje fotosistemoje tripletinis chlorofilas gali reaguoti su vandens oksidacijos metu susidariusiomis deguonies molekulėmis, ir tokios reakcijos metu susidaro singuletinis deguonis [4]. Esant šviesos pertekliui gali susidaryti pavojingai didelis kiekis singuletinio deguonies, kuris dėl savo aktyvumo gali pažeisti ar visiškai sugadinti fotosistemą, tad augalai yra išvystę savisaugos mechanizmus, išsklaidančius perteklinę energiją. Vienas tokių mechanizmų yra vadinamas nefotocheminiu gesinimu (NPQ, angl. *non-photochemical quenching*), kurio metu yra gesinami pertekliniai chlorofilų sužadiniai ir išvengiamas per didelis singuletinio deguonies kiekis [5].

Iki šiol nėra pilnai suprasta, koks yra NPQ veikimo mechanizmas. Vienas iš plačiausiai naudojamų aiškinimų yra toks, kad su NPQ yra susijęs krūvio pernašos (CT, angl. *charge-transfer*) būsenų susidarymas chlorofilo-karotenoido dimeruose, kadangi buvo aptikta koreliacija tarp NPQ ir zeksantino sužadintų būsenų [6, 7]. Visgi, nėra atmetama hipotezė, kad su NPQ gali būti susijusios ir CT būsenos, susidarančios chlorofilų dimeruose [8, 9]; jos atlieka svarbų vaidmenį fotosintezės procese dalyvaudamos pirminiame krūvio atskyrimo reakcijų centruose ir jų pėdsakai yra stebimi fotosintetinių kompleksų spektruose [10, 11], tad galbūt jos prisideda ir prie NPQ veikimo mechanizmo. Dauguma darbų šiuos reiškinius nagrinėja didžiąją PSII dalį sudarančiuose LHClI (angl. *Light-harvesting complex II*) kompleksuose, tačiau yra manoma, kad NPQ vykdo ir CP29 kompleksas [12], kuris yra įsiterpęs tarp reakcijų centro ir išorinio LHClI komplekso – itin svarbioje sužadavimo energijos pernašai vietoje.

Ankstesniuose darbuose [13–15] buvo identifikuotos CT būsenos penkiuose CP29 komplekso chlorofilų dimeruose naudojantis kvantinės ir molekulinės mechanikos metodais. Darbe [13] buvo pasitelkta tankio funkcionalo teorija (DFT, angl. *density functional theory*) dimerus sudarančių chlorofilų geometrijos optimizacijai vakuume bei nuo laiko priklausanti tankio funkcionalo teorija (TD-DFT, angl. *time-dependent density functional theory*) jų sužadintų būsenų skaičiavimams ir CT būsenų nustatymui. Yra žinoma, kad pigmentų elektroniniai procesai, tokie, kaip krūvio pernaša, yra jautrūs nedideliems savo ir aplinkinių molekulių struktūriniais pokyčiams, todėl reikėtų į skaičiavimus įtraukti ir aplinkines molekules. Dėl šios priežasties darbe [14] chlorofilų geometrijos optimizavimui ir CT būsenų nustatymui naudotas DFTB metodas (angl. *density functional based tight binding*) bei nuo laiko priklausanti jo atmaina TD-DFTB. Šis metodas yra DFT metodo aproksimacija, todėl jis yra paprastesnis ir galima atlikti skaičiavimus sistemoms su šimtais atomų [16],

tad darbe [14] buvo įtraukiamos arčiausiai nagrinėjamų chlorofilų esančios molekulės. Vis dėlto, fotosintetiniai kompleksai yra sudaryti iš tūkstančių atomų, tad pilnai įtraukiant aplinką skaičiavimai kvantinės mechanikos metodais būtų labai ilgi ir sudėtingi, todėl darbe [15] geometrijos optimizacija buvo atlikta klasikinės molekulinės mechanikos (MM) metodu, kuomet nagrinėjama sistema aprašoma jėgų laukų (FF, angl. *force field*) parametrais. Tokiu būdu į geometrijos optimizaciją buvo įtrauktas visas CP29 kompleksas bei membrana, į kurią jis buvo patalpintas, ir pasitelkiant TD-DFT metodą nustatyta, kad įskaitant aplinkos įtaką geometrijos optimizacijos metu chlorofilų dimerų CT būsenos įgauna panašias arba žemesnes energijas, negu geometrijos optimizacijos vakuume atveju.

Vis dėlto, minėtieji sužadintų būsenų skaičiavimai kiekvienu atveju buvo atlikti turint tik vieną CP29 komplekso konformacinę būseną. Kaip jau minėta, krūvio pernaša yra jautri nedideliems struktūriniais pokyčiams, tad esant kitokiai sistemos konformacinei būsenai, galima gauti skirtingus rezultatus. To nagrinėjimui galima pasitelkti molekulių dinamikos (MD, angl. *molecular dynamics*) simuliaciją, kuomet yra skaičiuojami molekulinės sistemos pokyčiai bėgant laikui, pasitelkiant jėgų laukais paremtus MM metodus [17]. Literatūroje trūksta darbų, kuriuose MD simuliacijos būtų naudojamos CT būsenų savybėms tirti, tad **šio darbo tikslas** yra atlikti CP29 komplekso molekulių dinamikos simuliaciją bei išnagrinėti jame esančių chlorofilų dimerų geometrijas ir krūvio pernašos būsenų energijas įvairiais laiko momentais.

1 Molekulių dinamika

Kompiuterinės simuliacijos leidžia nagrinėti biologinių sistemų dinamiką bėgant laikui, o vienas paprasčiausių ir plačiausiai naudojamų simuliacijos metodų – molekulių dinamika, pristatyta praėjusio amžiaus 8-ojo dešimtmečio pabaigoje [18, 19]. Nors MD simuliacijos yra taikomos jau kelis dešimtmečius, tik neseniai buvo pasiektos simuliacijų trukmės, kurios yra tokios pat eilės, kaip ir natūralių biologinių procesų trukmės. Prie to prisideda tobulinama skaičiavimų įranga, pažangesni skaitiniai algoritmai. MD simuliacijų taikymas yra platus: nuo struktūrų dinamikos nagrinėjimo, stabilumo tyrimo ir sistemos atsako į trikdį nagrinėjimo iki procesų priklausomybės nuo laiko stebėjimo [20]. Egzistuoja įvairių programinių paketų, skirtų MD simuliacijoms atlikti. Vieni populiariausių pasirinkimų yra Amber [21], GROMACS [22], CHARMM [23]. Šiame darbe naudojamas Amber programinis paketas.

Prieš atliekant MD simuliaciją yra svarbu atlikti tam tikrus paruošiamuosius žingsnius, kad simuliacija kuo labiau atitiktų realią sistemą. Tam dažnai pasirenkamos eksperimentiškai gautos struktūros iš Baltymų duomenų bazės (PDB, angl. *Protein Data Bank*). Dauguma eksperimentinių metodų, kurie naudojami struktūrinei informacijai gauti, negali išskirti vandenilio atomų, todėl jų duomenų bazėse esančiose struktūrose nėra. Dažniausiai atliekant MD yra sekami tokie žingsniai [24–26]:

1. Simuliacijų dėžės paruošimas: nagrinėjama molekulinė struktūra, jeigu reikia, patalpinama į jai tinkamą aplinką, pvz., į lipidų membraną ir/arba vandenį su jonais; parenkami atitinkami jėgų laukai, tinkamai aprašantys sistemos komponentus; pridedami trūkstami vandenilio atomai.
2. Sistemos energijos minimizacija: paruošiant sistemą simuliacijai, tam tikri atomai gali būti per arti, kas nėra palanku energetiškai, tad atomų padėtys yra optimizuojamos pagal nurodytus jėgų laukų parametrus. Šis žingsnis dažnai išskaidomas į kelis etapus, dalimis nuimant apribojimus nuo sistemos atomų.
3. Sistemos šildymas ir relaksacija: pasirenkamas kanoninis (NVT) arba izoterminis-izobarinis (NPT) ansamblis ir atliekama trumpa simuliacija, kad sistema pasiektų pusiausvyrą. Dažnai tam atliekamos kelios simuliacijos – iš pradžių NVT, kuomet sistema šildoma iki tam tikros temperatūros (pavyzdžiui, 300 K) su pastoviu tūriu ir apribojimais, ir tuomet NPT esant fiksuotai temperatūrai, po truputį pašalinant apribojimus nuo nagrinėjamos struktūros, iki kol pasiekama pusiausvyra.
4. MD simuliacija: turint paruoštą sistemą su minimizuota energija bei pasiekta pusiausvyra, galima atlikti MD simuliaciją, kurios trukmė priklauso nuo nagrinėjamos sistemos ir kompiuterio resursų. Sistemos geometrija yra fiksuojama kas tam tikrą laiko intervalą – taip gaunamos trajektorijos, kurios, pasibaigus MD simuliacijai, yra analizuojamos.

Vienas iš dydžių, kuriuos galima apskaičiuoti analizuojant gautas trajektorijas, yra vidutinis kvadratinis nuokrypis (RMSD, angl. *root-mean-square deviation*) nuo pasirinktos atskaitinės struktūros, pavyzdžiui, nuo pradinės struktūros. RMSD yra apskaičiuojamas pagal tokią formulę:

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [m_i \cdot (\vec{x}_i - \vec{y}_i)^2]}{M}}, \quad (1)$$

čia N yra atomų skaičius, m_i yra i -ojo atomo masė, \vec{x}_i yra nagrinėjamo atomo koordinatės, \vec{y}_i yra atskaitinės sistemos atomo koordinatės, ir M yra pilna atomų sistemos masė.

1.1 Energijos minimizacija

Sistemos energijos minimizacijai klasikinės molekulinės mechanikos būdu dažnai pirma yra naudojamas staigiausiojo nuolydžio (angl. *steepest descent*) metodas, išjudinantis sistemą iš stipriai energetiškai nepalankių padėčių, ir tuomet naudojamas sujungtinio gradiento (angl. *conjugate gradient*) metodas, kuris yra lėtesnis, bet duoda tikslesnius rezultatus. Yra ir kitų metodų, skirtų energijos minimizavimui, tačiau visų jų pagrindas yra sistemos potencinės energijos išvestinės (kartais ir antrosios išvestinės, priklausomai nuo metodo) skaičiavimas, ir gauto rezultato naudojimas pakeisti sistemos koordinates, kad būtų rasta mažesnė energija.

1.1.1 Staigiausiojo nuolydžio metodas

Staigiausiojo nuolydžio metodas [27] yra vienas paprasčiausių optimizacijos metodų: kiekvienoje iteracijoje sistemos koordinatės \vec{x} pakeičiamos neigiama gradiento kryptimi. Tai galima užrašyti taip:

$$\vec{x}_{n+1} = \vec{x}_n - \lambda_n \nabla V(\vec{x}_n), \quad (2)$$

$$\nabla V(\vec{x}) = \begin{pmatrix} \frac{\partial V}{\partial x_1} \\ \vdots \\ \frac{\partial V}{\partial x_N} \end{pmatrix}, \quad (3)$$

čia $V(\vec{x})$ yra sistemos energijos funkcija, priklausanti nuo atomų koordinatėms, o λ_n yra žingsnis. λ_n nulemia, kiek bus pakeičiamos koordinatės kiekvienoje iteracijoje. Žingsnio didumas priklauso nuo to, ar nauja energija didesnė už prieš tai buvusią, ar mažesnė. Jei didesnė, žingsnis sumažinamas, kadangi minimumo taškas buvo peršoktas. Jei mažesnė, žingsnis padidinamas dėl greitesnio konvergavimo. Kryptis, kuria žengiamas žingsnis, yra tokia, kad gradientai $\nabla V(\vec{x}_{n+1})$ ir $\nabla V(\vec{x}_n)$ būtų ortogonalūs.

Bendras staigiausiojo nuolydžio metodo algoritmas atrodo taip:

1. Apskaičiuojamas energijos gradientas su dabartinėmis koordinatėmis;
2. Parenkamas žingsnio dydis λ_n ;
3. Koordinatės atnaujinamos pagal (2) formulę;
4. Punktai 1–3 kartojami, iki kol pasiekiamas maksimalus iteracijų skaičius arba randamas minimumas pasirinktu tikslumu.

1.1.2 Sujungtinio gradiento metodas

Sujungtinio gradiento metodas yra sudėtingesnis, tačiau duodantis tikslesnius rezultatus [28]. Šiuo metodu kiekvienoje iteracijoje sistemos atomų koordinatės \vec{x} kinta taip:

$$\vec{x}_{k+1} = \vec{x}_k + \alpha_k \vec{p}_k, \quad (4)$$

čia α_k yra žingsnio dydis:

$$\alpha_k = \frac{\vec{p}_k^T \vec{r}_k}{\vec{p}_k^T \mathbf{A} \vec{p}_k}, \quad (5)$$

\vec{p}_k yra žingsnio kryptis, kuri gaunama sumuojant visus praėjusius žingsnius:

$$\vec{p}_k = \vec{r}_k - \sum_{i < k} \frac{\vec{p}_i^T \mathbf{A} \vec{r}_k}{\vec{p}_i^T \mathbf{A} \vec{p}_i} \vec{p}_i, \quad (6)$$

\vec{r}_k išraiška yra tokia:

$$\vec{r}_k = \vec{b} - \mathbf{A} \vec{x}_k, \quad (7)$$

$\vec{b} = \nabla V(\vec{x})$ yra energijos gradientas, $\mathbf{A} = \nabla^2 V(\vec{x})$ yra energijos antrų išvestinių matrica. Pradinė \vec{p}_k vertė yra parenkama kaip $\vec{p}_0 = \vec{r}_0$. Antrųjų išvestinių matricą skaičiuoti kiekviename žingsnyje kainuoja daug kompiuterio resursų, tad egzistuoja algoritmai, kurie apytiksliai atnaujina šią matricą, vietoj to, kad tiksliai skaičiuotų kiekvieną elementą.

Bendras sujungtinio gradiento metodo algoritmas atrodo taip:

1. Apskaičiuojamas energijos gradiento vektorius ir antrųjų išvestinių matrica su dabartinėmis koordinatėmis;
2. Apskaičiuojamas vektorius \vec{r}_k pagal (7);
3. Apskaičiuojama žingsnio kryptis \vec{p}_k pagal (6) ir žingsnio didumas α_k pagal (5) formulę;
4. Koordinatės atnaujinamos pagal (4) formulę;
5. Punktai 1–4 kartojami, iki kol pasiekiamas maksimalus iteracijų skaičius arba randamas minimumas pasirinktu tikslumu.

1.2 MD simuliacija

MD simuliacijos pagrindas yra skaitinis Niutono judėjimo lygčių sprendimas sistemai, sudarytai iš sąveikaujančių dalelių, ir taip gaunama sistemos deterministinė trajektorija fazinėje erdvėje, t. y. informacija apie kiekvienos dalelės judėjimą priklausomai nuo laiko [17, 24].

Egzistuoja įvairiausių algoritmų judėjimo lygčių sprendimui [29]. Vienas paprasčiausių yra vadinamas greičio Verlet (angl. *velocity Verlet*) algoritmu, kuriame koordinatės r naujame laiko žingsnyje $t + \Delta t$ apskaičiuojamos pagal tokią formulę:

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v(t) \Delta t + \frac{F}{2m} \Delta t^2, \quad (8)$$

čia m yra masė, F yra daleles veikiančios jėgos, kurios priklauso nuo sistemos pilnutinės potencinės energijos ir koordinatčių:

$$F = -\frac{dV_{\text{tot}}}{dr}, \quad (9)$$

ir $v(t)$ yra greitis, kuris atnaujinamas taip:

$$v(t + \Delta t) = v(t) + \frac{F(t + \Delta t) + F(t)}{2m} \Delta t, \quad (10)$$

čia jėgos F laikinė priklausomybė ateina dėl sistemos koordinatčių laikinės priklausomybės. Šiame algoritme atnaujintas greitis apskaičiuojamas jau apskaičiuavus atnaujintą koordinatę, ir naudojamas sekančiame iteracijos žingsnyje skaičiuoti naujas koordinates pagal (8).

Visgi, čia aprašytas Verlet algoritmas gali duoti nepakankamai tikslias greičio vertes, kadangi formulė (10) išvedama skleidžiant dydžius $r(t + \Delta t)$ ir $r(t - \Delta t)$ Teiloro eilute ir juos sudedant. Greičio pataisos Verlet (angl. *velocity corrected Verlet*) algoritmas greičio atnaujinimo formulę išveda sudedant $r(t + 2\Delta t)$, $r(t + \Delta t)$, $r(t - \Delta t)$ ir $r(t - 2\Delta t)$ Teiloro skleidinius, tad greitis apskaičiuojamas tiksliau. Dar tikslesni judėjimo lygties sprendimo algoritmai įtraukia aukštesnės eilės narius koordinatčių ir greičio skleidinyje, tačiau jie reikalauja žymiai daugiau kompiuterio resursų.

Taigi, paprasčiausias MD simuliacijos algoritmas atrodo taip:

1. Nustatomi parametrai, atitinkantys simuliacijos sąlygas (pvz., temperatūra, trukmė, laiko žingsnis, slėgis, ir t. t.), bei inicializuojama sistema – parenkamos pradinės atomų koordinatės ir greičiai;
2. Apskaičiuojamos daleles veikiančios jėgos diferencijuojant pilną sistemos potencinę energiją pagal koordinatę;
3. Skaitiškai sprendžiama Niutono judėjimo lygtis, apskaičiuojami greičiai sekančiam laiko žingsniui;
4. Žingsniai 2–3 kartojami kiekvienam laiko žingsniui, kol pasibaigia nustatytas simuliacijos laikas.

1.3 Jėgų laukai

Sprendžiant sistemos Niutono lygtis vykstant MD simuliacijai yra skaičiuojamos jėgos, kurios priklauso nuo dalelių padėčių bei sistemos potencinės energijos V_{tot} , kuri susideda iš energijos V_{bonded} dėl cheminių ryšių sąveikos bei energijos $V_{\text{non-bonded}}$ tarp bet kurių dviejų dalelių [24]:

$$V_{\text{tot}} = V_{\text{bonded}} + V_{\text{non-bonded}}. \quad (11)$$

Energija V_{bonded} susideda iš cheminių ryšių, kampų tarp ryšių, dvisienių kampų bei netaisyklingų dvisienių kampų tarp ryšių potencinių energijų:

$$V_{\text{bonded}} = V_{\text{bond}} + V_{\text{angle}} + V_{\text{dihedral}} + V_{\text{improper-dihedral}}. \quad (12)$$

Potencinė energija, aprašanti cheminio ryšio tarp i ir j atomų ilgio d_{ij} pokytį nuo pusiausvyros vertės d_b , išreiškiama taip:

$$V_{\text{bond}}(d_{ij}) = \frac{1}{2}K_b(d_{ij} - d_b)^2. \quad (13)$$

Potencinė energija V_{angle} nusako kampo ϑ_{ijk} tarp i , j ir k atomus jungiančių cheminių ryšių pokytį nuo pusiausvyros vertės ϑ_a :

$$V_{\text{angle}}(\vartheta_{ijk}) = \frac{1}{2}K_a(\cos \vartheta_{ijk} - \cos \vartheta_a)^2. \quad (14)$$

Potencinių energijų V_{dihedral} ir $V_{\text{improper-dihedral}}$ išraiškos yra tokios:

$$V_{\text{dihedral}}(\phi_{ijkl}) = K_d(1 + \cos(n\phi_{ijkl} - \phi_d)), \quad (15)$$

$$V_{\text{improper-dihedral}}(\varphi_{ijkl}) = \frac{1}{2}K_{id}(\varphi_{ijkl} - \varphi_{id})^2, \quad (16)$$

jos aprašo dvisienio kampo ϕ_{ijkl} tarp i , j , k ir l atomus jungiančių cheminių ryšių pokytį nuo pusiausvyros vertės ϕ_d , ir atitinkamai netaisyklingo dvisienio kampo φ_{ijkl} pokytį nuo pusiausvyros vertės φ_{id} . Čia n žymi potencialo periodiškumą, o energijų išraiškose esantys dydžiai K_b , K_a , K_d ir K_{id} yra jėgų konstantos, kurios parenkamos atitinkamai pagal nagrinėjamos molekulės standumą.

Energija $V_{\text{non-bonded}}$ susideda iš van der Valso ir Kulono sąveikų energijų:

$$V_{\text{non-bonded}} = V_{\text{vdw}} + V_{\text{coulomb}}. \quad (17)$$

Potencinė energija, žyminti van der Valso sąveiką, dažnai modeliuojama kaip Lenardo–Džonso (L–J, angl. *Lennard–Jones*) potencialas:

$$V_{\text{vdw}}(r_{ij}) = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right], \quad (18)$$

čia ε_{ij} yra potencinės duobės gylis, r_{ij} yra atstumas tarp dalelių, o σ_{ij} yra atstumas tarp i ir j dalelių, kuriame potencialas lygus 0. Kulono sąveikos išraiška yra tokia:

$$V_{\text{coulomb}}(r_{ij}) = \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r r_{ij}}, \quad (19)$$

čia ε_0 yra vakuomo dielektrinė skvarba, ε_r yra santykinė dielektrinė skvarba, r_{ij} yra atstumas tarp dalelių, o q_i ir q_j yra i ir j atomų daliniai krūviai, parodantys, kaip elektronai yra pasiskirstę molekulėje: ties kuriais atomais elektronų tankis didesnis, ir ties kuriais – mažesnis.

Visos minėtos konstantos (jėgų konstantos, ryšių ilgių ir kampų pusiausvyros vertės, atomų dali-

niai krūviai ir t. t.), reikalingos apskaičiuoti potencinę energiją, yra bendrai vadinamos jėgų lauku, tad kiekvienai molekulei jėgų laukas turi būti tinkamai parinktas, kad rezultatai atitiktų eksperimentinius duomenis ir būtų prasmingi. Minėtų konstantų vertės yra gaunamos iš eksperimentinių duomenų ir kvantinės mechanikos skaičiavimų [30].

Egzistuoja tam tikri standartiniai jėgų laukai, kuriuose dalis molekulių yra parametrizuotos. Juos naudojant yra svarbu žinoti, ar pasirinktas jėgų laukas yra tinkamas nagrinėjamai sistemai, o jei reikalingi keli jėgų laukai, ar jie tinkami naudoti kartu. Pavyzdžiui, Amber jėgų laukas *ff19SB* baltymui bei jėgų laukas *OPC* vandeniui ir jonams yra rekomenduojami naudoti kartu, bet *ff19SB* nerekomenduojama naudoti kartu su kitu vandens jėgų lauku *TIP3P* [31–33]; su šiuo jėgų lauku literatūroje dažnai naudojamas jėgų laukas baltymui *ff14SB* [34]. Be minėtų sistemų, egzistuoja Amber jėgų laukai DNR ir RNA molekulėms, angliavandeniams, lipidams, bei bendras jėgų laukas organinėms molekulėms, vadinamas *GAFF* (angl. *General Amber force field*) [35]. Nors nestandartinės organinės molekulės galima parametrizuoti naudojant jėgų lauką *GAFF*, tam tikrų sistemų atveju tai sukelia įvairių problemų ir netikslumų. Šviesorankos kompleksuose esančių pigmentų savybės yra itin jautrios aplinkos bei jų pačių struktūros pokyčiams, todėl yra labai svarbu parinkti jėgų lauką su tiksliais parametrais.

Svarbus dalykas kuriant jėgų laukų parametrus molekulėms yra atomų tipų pasirinkimas. Atomų tipais yra vadinamos atomų grupės, kuriose šie atomai turi panašią cheminę aplinką, t. y. jie sudaro panašius cheminius ryšius, turi panašias parametrų vertes, tokią pačią hibridizaciją ir t. t. Kuo daugiau atomų tipų yra išskiriama, tuo tiksliau yra aprašoma sistema, bet tuo pačiu atsiranda ir žymiai daugiau parametrų, todėl juos sudėtingiau pritaikyti kitoms sistemoms. Atomų tipai turi būti parinkti taip, kad jų nebūtų per daug, bet kad jie būtų pakankami molekulės aprašymui. Rekomenduojama didinti atomų tipų kiekį tik tokiu atveju, jeigu tai žymiai pagerina skaičiavimų tikslumą.

1.3.1 Jėgų lauko parametrai karotenoidams

Pagal straipsnį [36], kuomet *GAFF* yra naudojamas aprašyti fotosintetinio komplekso karotenoidus, pagrindinės išskylančios problemos yra tokios:

- Pervertinami cheminių ryšių ilgiai: viengubi ryšiai yra ilgesni ir dvigubi ryšiai yra trumpesni, palyginus su kvantinės mechanikos skaičiavimų rezultatais;
- Nuvertinami kai kurių dvisienių kampų sukimo barjerai;
- Netinkamas normalinių modų aprašymas.

Todėl minėtame straipsnyje yra aprašomas keturių karotenoidų – liuteino, neoksantino, violaksantino ir zeaksantino – tikslesnių jėgų lauko parametrų sukūrimas, kuriuos naudojant gaunamos tikslesnės struktūrinės, virpesinės ir elektroninės karotenoidų savybės.

Kulono sąveikos, esančios $V_{\text{non-bonded}}$ energijos išraiškoje (17), parametrai yra daliniai atomų krūviai, ir jie buvo gauti iš pradžių molekulių geometrijas optimizuojant B3LYP/6-311G** lygmens teorija, ir tuomet joms taikant RESP (angl. *Restrained ElectroStatic Potential*) metodą [37]. $V_{\text{non-bonded}}$ esanti van der Valso sąveika buvo modeliuota pagal (18) išraišką, ir jos parametrų vertės buvo naudotos iš *GAFF*.

V_{bonded} išraiškoje (12) esančių jėgos konstantų, cheminių ryšių ilgių bei kampų tarp ryšių pradinės pusiausvyros vertės buvo apskaičiuotos naudojantis lokaliu harmoniniu artiniu minimalios geometrijos potencinės energijos paviršiumi aprašyti. Tuomet jų vertės buvo apskaičiuotos pagal Hessiano matricos tikrines vertes, ir pataisytos dauginant iš tam tikro daugiklio, kad būtų atsižvelgta į skirtumą tarp eksperimentiškai stebimų virpesinių dažnių verčių ir rezultatų, gautų iš pirminių principų skaičiavimų. Dvisienių kampų parametrai buvo parinkti pagal [38], o likę parametrai buvo gauti iš *GAFF* jėgų lauko, juos pakoreguojant su tam tikru daugikliu, kad geriau atitiktų karotenoidų IR spektro žemų energijų dalį.

Nauji karotenoidų parametrai straipsnyje [36] buvo lyginti su *GAFF* jėgų lauku atliekant klasikinės molekulinės mechanikos MD simuliacijas. Gautas žymiai geresnis struktūros savybių atitikimas su DFT metodu apskaičiuotomis vertėmis, kuomet naudojami nauji parametrai, lyginant su *GAFF* rezultatais.

1.3.2 Jėgų lauko parametrai chlorofilams

Jėgų laukas *GAFF* įtraukia tik nedidelę dalį atomų: H, O, C, N, S, P, F, Cl, Br ir I. Tai sukelia problemų norint aprašyti tokias molekules, kaip chlorofilai, kadangi į jų struktūrą be H, O, C ir N įeina ir Mg atomas. Straipsnis [39] aprašo PSII *a* tipo chlorofilo jėgų lauko parametrų kūrimą.

Energijos $V_{\text{non-bonded}}$ parametrai minėtame straipsnyje gauti panašiu būdu, kaip ir karotenoidų atveju, išskyrus tai, kad čia molekulės geometrijos optimizacijai buvo naudotas HF (angl. *Hartree-Fock*) metodas [40] su 6–31G** bazinių funkcijų rinkiniu, ir molekulės su gauta geometrija energija buvo skaičiuojama naudojant DFT metodą su B3LYP funkcionalu ir cc-pVTZ bazinių funkcijų rinkiniu. Organinio tirpiklio terpė buvo įtraukta pasirinkus santykinę dielektrinę skvarbą $\epsilon = 4$. Daliniai krūviai buvo taip pat gauti taikant RESP metodiką.

Cheminių ryšių ilgių ir kampų potencialų, esančių V_{bonded} išraiškoje, parametrai buvo gauti taikant lokalų harmoninį artinį, t. y. sekant tokius žingsnius:

1. Chlorofilo struktūra optimizuota B3LYP/6–31G* lygmens teorija;
2. Kiekvieno ryšio ilgis buvo keičiamas intervale $\pm 0,1 \text{ \AA}$ apie pusiausvyros vertę kas $0,005 \text{ \AA}$, o kiekvienas kampas – intervale $\pm 10,0^\circ$ apie pusiausvyros vertę kas $0,5^\circ$. Kiekviename nagrinėjamo ryšio/kampo keitimo žingsnyje optimizuojama struktūra ir apskaičiuojama energija QM metodu;
3. Kiekvienai struktūrai, gautai 2 žingsnyje, apskaičiuojama potencinė energija MM metodu;
4. Paskaičiuojamas energijų skirtumas tarp MM ir QM energijų, ir tuomet energijos priklausomybė aproksimuojama atitinkamai harmonine ryšio arba kampo potencialo funkcija;
5. Perskaičiuojama kiekvienos struktūros potencinė energija MM metodu;
6. Žingsniai 4 ir 5 kartojami tol, kol pasiekiamas pakankamai mažas skirtumas tarp MM ir QM potencinių energijų.

Dvisieniai kampai taip pat buvo aproksimuoti panašiu būdu. Dėl savo periodiškumo, jie buvo sukami 360° kas $5,0^\circ$.

Straipsnyje [41] šie parametrai buvo patobulinti. Pastebėta, kad tarp vienas prieš kitą esančių azoto atomų kampo pusiausvyros vertė yra 90° , nors turėtų būti 180° , todėl buvo įvestas dar vienas azoto atomo tipas, kad būtų išvengtas šis netikslumas. Pridėti trūkstami dvisienių kampų parametrai. Taip pat sukurti *b* tipo chlorofilo parametrai, remiantis *a* tipo chlorofilu, pridedant naujus atomo tipus, o trūkstami parametrai gauti iš *GAFF*. Daliniai krūviai buvo perskaičiuoti, naudojant HF/6–31G* lygmens energijos skaičiavimų rezultatus geometrijoms, optimizuotoms naudojant B3LYP/6–311G** lygmens teoriją.

2 Nuo laiko priklausanti tankio funkcionalo teorija (TD-DFT)

Kvantinėje mechanikoje sistemos būseną aprašoma bangine funkcija, gaunama išsprendus Šrėdingerio lygtį. Vis dėlto, šią lygtį analiziškai išspręsti galima tik mažiausioms sistemoms, o sistemoje esant daug dalelių, reikia naudoti įvairius artinius. Vienas tokių artinių – DFT [42, 43]. Šis metodas yra pagrįstas dviem Hohenbergo ir Kono teoremomis [44]:

1. Sistemos elektroninės būsenos savybės yra aprašomos pagrindinės būsenos elektronų tankio funkcija ρ_0 , t. y. bet kokia sistemos savybė (pvz., pagrindinės būsenos energija) yra elektronų tankio funkcionalas;
2. Skaičiuojant sistemos energiją naudojant bet kokį elektronų tankį, ji visuomet bus didesnė arba lygi tikrajai pagrindinės būsenos energijai.

Laikant, kad sistema atitinka nesąveikaujančių elektronų sistemą, Konas ir Šemas suformavo energijos funkcionalo išraišką, kurioje energija yra atskirta į kinetinę energiją T_e , elektrono ir branduolio sąveikos energiją E_{eb} , elektrostatinės sąveikos energiją E_{ee} , ir pakaitinę-koreliacinę energiją E_{xc} [45]:

$$E_0 = T_e [\rho_0] + E_{eb} [\rho_0] + E_{ee} [\rho_0] + E_{xc} [\rho_0]. \quad (20)$$

Pagal antrąją Hohenbergo ir Kono teoremą minimizuojant šią išraišką yra gaunamos Kono-Šemo (KS) lygtys KS funkcijoms ψ_i^{KS} apskaičiuoti (lygtis pateikta atominiais vienetais):

$$\left\{ -\frac{1}{2}\nabla^2 - \sum_{I=1}^N \frac{Z_I}{|\vec{r} - \vec{r}_I|} + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + V_{xc}(\vec{r}) \right\} \psi_i^{KS}(\vec{r}) = \varepsilon_i^{KS} \psi_i^{KS}(\vec{r}), \quad (21)$$

čia ε_i^{KS} yra atitinkamos KS funkcijos energija, ∇^2 yra Laplaso operatorius, antrasis narys aprašo sąveiką su N branduolių, kurių atominiai skaičiai yra Z_I , trečiasis narys aprašo elektrostatinę sąveiką tarp koordinatų \vec{r} ir \vec{r}' , o pakaitinis-koreliacinis potencialas V_{xc} apskaičiuojamas taip:

$$V_{xc}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho(\vec{r})]}{\delta \rho(\vec{r})}. \quad (22)$$

Šios lygtys yra analogiškos Šrėdingerio lygčiai ir yra DFT metodo pagrindas. DFT metodas yra plačiai naudojamas dėl savo našumo: kadangi jis remiasi elektronų tikimybės tankio funkcija, esant bet kokiam dalelių kiekiui, lieka tik 3 kintamieji, atitinkantys koordinatas, taigi, laisvės laipsnių skaičius yra nepalyginamai mažesnis negu metodų, besiremiančių visų sistemos elektronų banginėmis funkcijomis (n elektronų atitinka $4n$ laisvės laipsnių).

Nuo laiko priklausanti šio metodo atmaina TD-DFT yra naudojama skaičiuojant sistemų atsaką į nuo laiko priklausančius elektrinį ir magnetinį laukus, sužadintas elektrones būsenas, sugerties spektrus ir t. t. Šio metodo idėja yra analogiška DFT metodo idėjai: nestacionarioji Šrėdingerio lygtis pakeičiama taip, kad pagrindinis kintamasis yra nebe daugelio dalelių banginė funkcija, o elektronų tankis [46, 47]. Nestacionariąją Šrėdingerio lygtį atitinkančios KS lygtys užrašomos taip (lygtis pateikta atominiais vienetais):

$$i \frac{\partial}{\partial t} \psi_i^{\text{KS}}(\vec{r}, t) = \left\{ -\frac{1}{2} \nabla^2 + V_{\text{KS}}(\vec{r}, t) \right\} \psi_i^{\text{KS}}(\vec{r}, t), \quad (23)$$

čia V_{KS} yra KS potencialas, o KS funkcijos $\psi_i^{\text{KS}}(\vec{r}, t)$ susietos su elektronų tankiu tokia išraiška:

$$\rho(\vec{r}, t) = \sum_{i=1}^n |\psi_i^{\text{KS}}(\vec{r}, t)|^2. \quad (24)$$

KS potencialo išraiška paprastai yra trijų narių suma:

$$V_{\text{KS}}(\vec{r}, t) = \int \frac{\rho(\vec{r}', t)}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + V_{\text{ext}}(\vec{r}, t) + V_{\text{xc}}(\vec{r}, t), \quad (25)$$

čia V_{xc} yra pakaitinis-koreliacinis potencialas, o antrasis narys V_{ext} yra tam tikras išorinis nuo laiko priklausantis potencialas. Hohenbergo ir Kono teoremų analogas nuo laiko priklausančioje tankio funkcionalo teorijoje yra Rungės ir Grosso teorema, susiejanti minėtą išorinį potencialą su elektronų tankiu [48]. Ši teorema teigia, kad esant tai pačiai pradinei būsenai, bet skirtingiems išoriniams potencialams ($V_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$ ir $V'_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$), elektronų tankis bėgant laikui skirsis ($\rho(\vec{r}, t) \neq \rho'(\vec{r}, t)$), jeigu išoriniai potencialai skiriasi daugiau negu tik nuo laiko priklausančia komponente $c(t)$ ($V_{\text{ext}}(\vec{r}, t) - V'_{\text{ext}}(\vec{r}, t) \neq c(t)$). Dėl šių sąlygų egzistuoja vienareikšmis ryšys tarp elektronų tankių ir išorinių potencialų, taigi potencialas V_{ext} yra tankio funkcionalas.

Jeigu išorinis potencialas yra stiprus, KS lygtis (23) reikia spręsti tiesiogiai, tačiau esant silpnam išoriniam potencialui tai galima apeiti naudojantis tiesinio atsako teorija. Tokiu atveju laikoma, kad yra tam tikras pagrindinės būsenos sutrikdymas:

$$\rho(\vec{r}, t) = \rho_0(\vec{r}) + \delta\rho(\vec{r}, t). \quad (26)$$

Tuomet pakaitinis-koreliacinis potencialas gali būti išreikštas taip:

$$V_{\text{xc}}[\rho_0 + \delta\rho](\vec{r}, t) = V_{\text{xc}}[\rho_0](\vec{r}) + \int dt' \int d\vec{r}' f_{\text{xc}}[\rho_0](\vec{r}, \vec{r}', t - t') \delta\rho(\vec{r}', t'), \quad (27)$$

čia narys $V_{\text{xc}}[\rho_0](\vec{r})$ apskaičiuojamas pagal (22) išraišką, o f_{xc} yra pakaitinis-koreliacinis branduolys, skaičiuojamas pagrindinės būsenos elektronų tankiui:

$$f_{\text{xc}}[\rho_0](\vec{r}, \vec{r}', t - t') = \left. \frac{\delta V_{\text{xc}}(\vec{r}, t)}{\delta \rho(\vec{r}', t')} \right|_{\rho=\rho_0}. \quad (28)$$

Elektronų tankio trikdys $\delta\rho$ užrašomas taip:

$$\delta\rho(\vec{r}, t) = \int dt' \int d\vec{r}' \chi[\rho_0](\vec{r}, \vec{r}', t - t') \delta V_{\text{ext}}(\vec{r}', t'), \quad (29)$$

čia χ yra atsako funkcija, kuri parodo, kaip tankis ρ pasikeis taške \vec{r} laiko momentu t , jeigu atsiranda mažas pokytis išoriniame potenciale V_{ext} taške \vec{r}' laiko momentu t' . Ši atsako funkcija randama išsprendus tokią lygtį, pateiktą dažnių srityje:

$$\chi(\vec{r}, \vec{r}', \omega) = \chi_{\text{KS}}(\vec{r}, \vec{r}', \omega) + \int d\vec{r}_1 \int d\vec{r}_2 \chi_{\text{KS}}(\vec{r}, \vec{r}_1, \omega) \left\{ \frac{1}{r_{12}} + f_{\text{xc}}(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \omega) \right\} \chi(\vec{r}_2, \vec{r}', \omega), \quad (30)$$

čia χ_{KS} yra išreiškiama per pagrindinės būsenos KS funkcijas $\psi^{\text{KS}}(\vec{r})$:

$$\chi_{\text{KS}}(\vec{r}, \vec{r}', \omega) = \lim_{\eta \rightarrow 0^+} \sum_{jk}^{\infty} (f_k - f_j) \frac{\psi_j^{\text{KS}}(\vec{r}) \psi_j^{\text{KS}*}(\vec{r}') \psi_k^{\text{KS}}(\vec{r}') \psi_k^{\text{KS}*}(\vec{r})}{\omega - (\varepsilon_j^{\text{KS}} - \varepsilon_k^{\text{KS}}) + i\eta}, \quad (31)$$

čia f_i yra elektronų, užpildančių ψ_i^{KS} funkciją atitinkančią orbitale, skaičius, $\varepsilon_i^{\text{KS}}$ yra atitinkamos KS funkcijos energija.

2.1 Bazinės funkcijos

Išraiškoje (31) esančios KS funkcijos yra išskleidžiamos bazinėmis funkcijomis:

$$\psi_i^{\text{KS}} = \sum_{s=1}^m c_{si} \phi_s, \quad (32)$$

čia c_{si} yra koeficientai, kurie keičiami, norint pakeisti funkcijos formą, kadangi bazinių funkcijų forma yra fiksuota. Šios bazinės funkcijos yra parenkamos prieš atliekant skaičiavimus – taip apskaičiuojamos pradinės KS funkcijos, reikalingos apskaičiuoti elektronų tankį:

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^n |\psi_i^{\text{KS}}(\vec{r})|^2. \quad (33)$$

Tuomet, turint pradines KS funkcijų bei tankio išraiškas, yra iteraciškai sprendžiamos KS lygtys ir vis patikslinamos turimos išraiškos, kol jos galiausiai sukonverguoja norimu tikslumu. Tuomet galima skaičiuoti sistemos pilnutinę energiją bei kitas savybes.

Yra įvairių bazinių funkcijų rinkinių; dažniausiai atliekant skaičiavimus DFT metodu yra naudojami rinkiniai, sudaryti iš Gauso tipo funkcijų (GTO, angl. *Gaussian-type orbitals*) [49]. Sleterio tipo funkcijos (STO, angl. *Slater-type orbitals*) [50] labiau tinka aprašyti elektronų tankio pasiskirstymą, tačiau skaičiavimai su STO naudoja daugiau kompiuterio resursų, be to, jas galima aproksimuoti kelių Gauso funkcijų tiesine kombinacija ir šitaip pasiekti geresnę pasiskirstymo atitikimą naudojant GTO. GTO bazinių rinkinių pavadinimai dažnai atitinka formą N-MPG [51]: N yra Gauso funkcijų, atitinkančių vidines STO, skaičius, M ir P yra atitinkamai valentinių STO vidinės ir išorinės dalies Gauso funkcijų skaičiai, o raidė G parodo, kad naudojamos Gauso funkcijos. Valentinės orbitalės aprašomos daugiau negu viena bazine funkcija dėl to, kad būtent valentiniai elektronai yra svarbiausi formuojant molekulinis ryšius. Siekiant didesnio tikslumo, gali būti naudojamos ir poliarizacinės (pridedamas žymėjimas „*“) bei difuzinės (pridedamas žymėjimas „+“) funkcijos. Vienas plačiausiai naudojamų bazinių funkcijų rinkinių atliekant skaičiavimus DFT metodu yra 6-31G* [52].

2.2 Pakaitinės-koreliacinės energijos funkcionalai

Pagrindinės būsenos pakaitinis-koreliacinis potencialas $V_{xc}[\rho_0]$, esantis (27) išraiškoje, yra apskaičiuojamas iš pakaitinės-koreliacinės energijos E_{xc} . Ši energija aprašo skirtumą tarp supaprastintos nesąveikaujančių elektronų sistemos bei realios sistemos, tačiau jos tikslus pavidalas nėra žinomas, tad pagrindinės paklaidos, atsirandančios naudojant DFT ir TD-DFT metodus, kyla būtent iš šios dalies. Taigi, metodo tikslumas priklauso nuo to, koks artinys pasirenkamas energijos funkcionalui $E_{xc}[\rho_0]$ aprašyti.

Dauguma artinių išskaido pakaitinę-koreliacinę energiją į pakaitinius ir koreliacinius narius. Vienas plačiausiai naudojamų tokio funkcionalo pavyzdžių – B3LYP funkcionalas (angl. *Becke 3-parameter Lee-Yang-Parr functional*). Tai yra hibridinis funkcionalas, kadangi jis apjungia analizinės išraiškas ir empirinius duomenis [53, 54]. Šio funkcionalo išraiška yra tokia:

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0) E_x^{LSDA} + a_0 E_x^{HF} + a_x \Delta E_x^{B88} + a_c E_c^{LYP} + (1 - a_c) E_c^{VWN}, \quad (34)$$

čia koeficientai yra $a_0 = 0.2$, $a_x = 0.72$ ir $a_c = 0.81$, E_x^{LSDA} yra LSDA (angl. *local spin density approximation*) funkcionalo pakaitinis narys, išreiškiamas taip (α ir β čia atitinka elektrono sukinių) [55, 56]:

$$E_x^{LSDA} = -\frac{3}{4} \left(\frac{6}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \int \left[(\rho_\alpha)^{\frac{4}{3}} + (\rho_\beta)^{\frac{4}{3}} \right] d\vec{r}, \quad (35)$$

funkcionalas E_x^{HF} yra Hartrio-Foko pakaitinis funkcionalas (čia K_{ij} yra pakaitinis integralas [43]):

$$E_x^{HF} = - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n K_{ij}, \quad (36)$$

funkcionalas ΔE_x^{B88} yra Becke pakaitinio funkcionalo pataisa [57], E_c^{LYP} yra Lee-Yang-Parr koreliacinis funkcionalas [58], ir E_c^{VWN} yra Vosko-Wilk-Nusair lokalus koreliacinis funkcionalas [59].

Vis dėlto, B3LYP funkcionalo naudojimas neduoda pakankamai tikslių rezultatų tam tikrais atvejais, vienas jų – krūvio pernašos būsenų skaičiavimai. Taip yra todėl, kad esant dideliame atstumui pakaitinis narys turėtų būti $-r^{-1}$ pavidalo, o ne $-0,2 \cdot r^{-1}$, kaip nutinka B3LYP atveju. Šios paklaidos yra sumažinamos naudojant CAM-B3LYP funkcionalą (CAM – angl. *Coulomb-attenuating method*) [60]. Šiame funkcionalo yra atskiriamas atstumas $r_{12} = |\vec{r}_1 - \vec{r}_2|$ į trumpo ir ilgo nuotolio sąveikos narius:

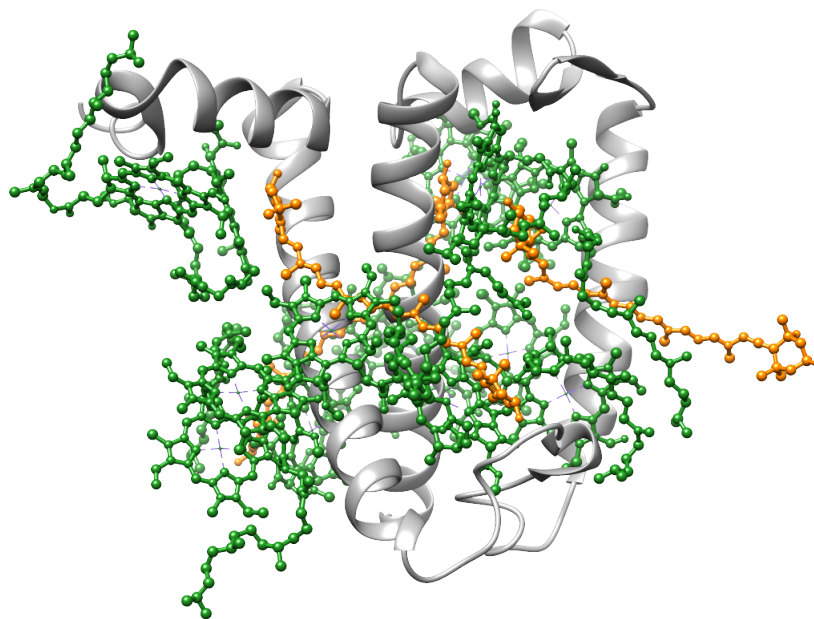
$$\frac{1}{r_{12}} = \frac{1 - [\alpha + \beta \cdot \text{erf}(\mu r_{12})]}{r_{12}} + \frac{\alpha + \beta \cdot \text{erf}(\mu r_{12})}{r_{12}}, \quad (37)$$

čia parametrai $\alpha = 0,19$ ir $\beta = 0,46$ pakeičia (34) išraiškoje naudojamą parametą a_0 , parametras $\mu = 0,33$ nustato santykį tarp trumpo ir ilgo nuotolio sąveikos narių [61], o $\text{erf}z$ yra paklaidų funkcija (angl. *error function*), apibrėžiama taip:

$$\text{erf}z = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-t^2} dt. \quad (38)$$

3 Metodika

Šiame darbe nagrinėjamas šviesorankos kompleksas CP29, kurio aukštos rezoliucijos PDB struktūra buvo gauta Rentgeno kristalografijos metodu (PDB ID: 3PL9) [62]. Šį kompleksą sudaro baltymo grandinė, 9 *a* tipo ir 4 *b* tipo chlorofilai, bei karotenoidai liuteinas, neoksantinas ir violaksantinas (1 pav.). Iš struktūros buvo pašalintos dvi HTG molekulės, atsiradusios struktūroje komplekso purifikacijos metu, kristalinis vanduo, bei gliceraldehido 3-fosfatas (G3P), remiantis literatūra [63].

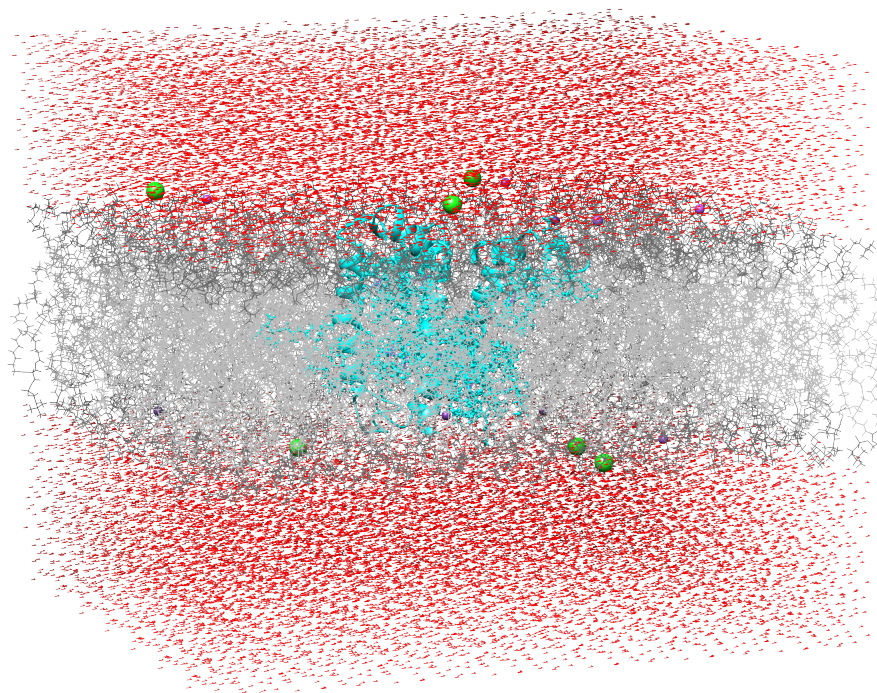


1 pav. Šviesorankos komplekso CP29 struktūra [62]. Pilka spalva pavaizduota baltymo grandinė, žalia – chlorofilai, oranžine – karotenoidai.

CP29 kompleksas yra membraninis kompleksas, todėl naudojant CHARMM-GUI įrankį [64] jo struktūra buvo patalpinta į DOPC fosfolipidų dvisluoksniui membranai. Kadangi generuojant membraninę sistemą su CHARMM-GUI įrankiu galiausiai yra sukuriama topologijos failai simuliacijoms, reikia pasirinkti, kokių būdu bus sukuriama jėgų lauko parametrai pigmentams. Tą galima padaryti naudojant *sdf* formato failus, esančius RCSB PDB puslapyje [65] ir talpinančius informaciją apie molekulės atomų koordinatas ir ryšius. Problema kyla su neoksantinu, kadangi jame esantis aleno tipo ryšys ($R_2C = C = CR_2$) nėra atpažįstamas CHARMM-GUI įrankio. Šiai problemai apeiti buvo pakoreguotas neoksantino *sdf* failas: vienas dvigubas ryšys pakeistas viengubu pridėdam abiejose jo pusėse po H atomą, bet paliekant tokį patį ryšio ilgį. Visi CHARMM-GUI pridėti H atomai prieš atliekant tolimesnius žingsnius yra pašalinami ir skaičiavimams atlikti nenaudojami CHARMM-GUI įrankio sukurti topologijos failai, tad toks pakeitimas nesugadina neoksantino struktūros. Prieš talpinant molekulinę sistemą į membraną reikia atsižvelgti į trūkstamas bei nestandartinės protonacijos aminorūgštis. Kadangi pasirinktoje CP29 komplekso PDB struktūroje baltymo grandinė nėra pilna, t. y. trūksta 1–87 aminorūgščių, vietoje jų grandinės pradžioje pridėta acetilo grupė (ACE). Naudojantis PROPKA3 įrankiu [66, 67] buvo nustatyta, kad gliutamo rūgštys GLU 151 ir GLU 197 yra nestandartinės protonacijos, tad jos buvo pakeistos iš neprotonuotų į protonuotas.

Tuomet sistema orientuota membranoje pagal [68] puslapyje pateiktą orientaciją (atsižvelgta į tai, kuri komplekso pusė yra nukreipta į chloroplasto stromą, o kuri – į tilakoido liumeną). Kad atliekant MD simuliaciją su periodinėmis kraštinėmis sąlygomis sistema nesąveikautų pati su savimi, pasirinktas 130 Å membranos ilgis ir plotis, o vandens sluoksnio virš jos ir po ja storis pasirinktas 30 Å, taigi, gauta 130 Å × 130 Å × 111 Å dydžio simuliacijų dėžė.

Tolimesniam sistemos paruošimui bei simuliacijoms atlikti buvo naudotas Amber22 programinis paketas [21]. Sistemos parametrizavimui bei simuliacijos įvesties failų sukūrimui naudota Amber programa LEaP. Baltyminei aplinkai bei fosfolipidų membranai atitinkamai naudoti Amber jėgų laukai *ff14SB* ir *lipid21*. Vandens molekulės ir jonai aprašyti Amber jėgų lauku *TIP3P*. Pigmentų molekulės aprašytos jėgų lauko parametrais iš literatūros – chlorofilų parametrų vertės imtos iš [41], o karotenoidų – iš [36]; šių parametrų pritaikymas skaičiavimams yra aprašytas ankstesniame darbe [15]. Visoms molekulėms buvo pridėti trūkstami vandenilio atomai. Pagal CP29 komplekso fiziologines sąlygas vandenyje turėtų būti 0,01 M Na⁺ ir Cl⁻ jonų [69], todėl buvo pridėti 9 natrio ir 6 chloro jonai sistemos neutralizavimui. Galutinė supersistema yra pavaizduota 2 pav. Ją iš viso sudaro 175535 atomai – CP29 kompleksas, sudarytas iš 4536 atomų, 9 Na⁺ ir 6 Cl⁻ jonai, 36433 vandens molekulės ir 447 DOPC molekulės. Galiausiai sukurti *prmtop* formato topologijos bei *inpcrd* formato koordinacinių failai, reikalingi jėgų laukais paremtiems skaičiavimams atlikti.



2 pav. CP29 struktūra (žydra), patalpinta į DOPC lipidų membraną (pilka) ir vandenį (raudona) su natrio jonais (violetinė) bei chloro jonais (žalia).

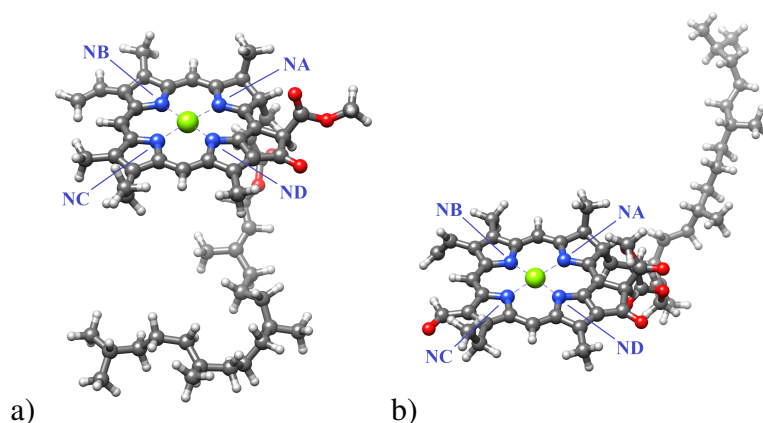
Remiantis straipsniu [25], kuriame energijos minimizacijos metu atomai yra apribojami jėgomis, neleidžiančiomis jiems nukrypti nuo pradinės padėties, sistemos energijos minimizacija buvo atliekama trimis etapais:

1. Ant visų sistemos atomų uždėti 50 kcal/mol · Å⁻² apribojimai, išskyrus vandenilio atomų;
2. Apribojimai nuimti nuo vandens molekulių bei jonų;

3. Apribojimai nuimti nuo visų sistemos atomų.

Kiekviename etape pirmi 50 žingsnių buvo skaičiuojami naudojantis staigiausiojo nuolydžio metodu, o likę žingsniai – sujungtinio gradiento metodu. Minimalios energijos sistemai buvo atlikta 1 ns trukmės NVT simuliacija, po truputį keliant temperatūrą nuo 100 K iki 300 K bei uždėjus $10 \text{ kcal/mol} \cdot \text{Å}^{-2}$ apribojimus CP29 kompleksui ir fosfolipidų membranai. Po to buvo atlikta 5 ns trukmės NPT simuliacija esant pastoviai 300 K temperatūrai, kas 1 ns sumažinant apribojimus bei paskutinę ns šiuos apribojimus pašalinus. Turint relaksuotą sistemą, buvo atlikta 20 ns trukmės MD simuliacija. Sistemos geometrija buvo išsaugoma kas 5 ps, tad gauta 4000 žingsnių trajektorija. Visoms simuliacijoms naudotas 1 fs trukmės žingsnis, o vandenilių ryšių ilgiai buvo apriboti pasitelkiant SHAKE algoritmą [70]. Šiame darbe naudotos simuliacijų trukmės buvo pasirinktos atsižvelgus į literatūrą [25, 71], sistemos dydį bei kompiuterio resursus.

MD simuliacijos rezultatai buvo analizuojami naudojantis Amber programa Cpptraj [72] bei vizualizacijos programa Chimera [73]. Atlikta CP29 komplekso MD trajektorijos RMSD nuo pradinės komplekso struktūros analizė; tokia analizė atlikta ir kiekvienam chlorofilui atskirai dviem atvejais – skaičiuojant nuokrypius nuo pradinės PDB struktūros ir nuo relaksuotos struktūros. Į šiuos skaičiavimus buvo įtraukiami tik chlorofiluose esantys azoto ir magnio atomai (3 pav.), ir taip buvo atsižvelgiama tik į porfirino žiedo padėties kitimą, t. y. jo centro poslinkį ir plokštumos pasisukimus, neįtraukiant fitilo uodegos pokyčių. Apskaičiuoti chlorofilų porfirino žiedų poslinkiai po energijos minimizacijos, relaksacijos ir MD simuliacijos, bei atstumų ir kampų tarp dimerų sudarančių chlorofilų porfirino žiedų dinamika bėgant laikui. Atstumu tarp chlorofilų dimeruose buvo laikomi atstumai tarp chlorofiluose esančių magnio atomų. Dimerų kampai buvo gauti pirma apskaičiuojant normalės vektorius porfirino žiedų plokštumoms, kurios buvo aprašytos trimis azoto atomais – NA, NB ir NC (iš viso chlorofilo porfirino žiede yra keturi azoto atomai – NA, NB, NC ir ND), kadangi jie yra išsidėstę simetriškai magnio atomo atžvilgiu apytiksliai toje pačioje plokštumoje (3 pav.), ir tuomet apskaičiuojant kampus tarp šių normalės vektorių.



3 pav. a) *a* ir b) *b* tipo chlorofilai. Anglies atomai pavaizduoti tamsiai pilka spalva, deguonies atomai – raudona, azoto atomai – mėlyna, magnio atomas – žalia, vandenilio atomai – šviesiai pilka. Taip pat surašyti azoto atomų pavadinimai.

Pasirinkti 8 laiko momentai iš simuliacijos nuo 2,5 ns iki 20 ns kas 2,5 ns, ir kiekviename jų atlikti sužadintų būsenų skaičiavimai dimerams *a603–a609*, *a611–a612*, *a611–a615*, *b606–a604*

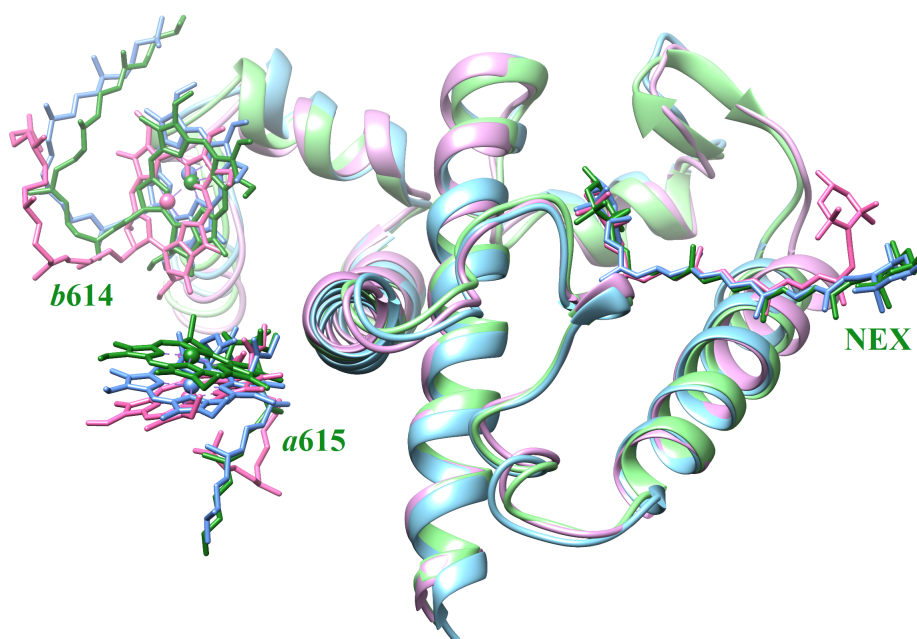
ir b614–a613, kadangi juose buvo aptiktos CT būsenos ankstesniuose darbuose [13–15]. Chlorofilų sužadintų būsenų skaičiavimams buvo pasitelktas TD-DFT metodas, naudojant CAM-B3LYP funkcionalą su 6-31G* bazinių funkcijų rinkiniu, ir šie skaičiavimai buvo atliekami kiekvienam dimerui esant vakuume. CT būsenos identifikuotos atsižvelgiant į šiuos parametrus:

- CT būsenos šuolio dipolinis momentas yra labai mažas, palyginus su kitomis sužadintomis būsenomis;
- CT būsenos statinis dipolinis momentas yra žymiai didesnis, negu kitų sužadintų būsenų;
- Dalinių atomų krūvių suma vienam chlorofilui dimere turi būti artima -1 , o kitam $+1$, kas atitinka elektrono perėjimą iš vieno chlorofilo į kitą.

4 Rezultatai ir jų aptarimas

4.1 Pigmentų poslinkiai po CP29 komplekso energijos minimizacijos ir relaksacijos

Prieš atliekant molekulių dinamikos simuliaciją, nagrinėjamai membraninei sistemai buvo atlikta energijos minimizacija, tuomet šildymas ir relaksacija. CP29 komplekso pradinės, optimalios bei relaksuotos geometrijų palyginimas yra pateiktas 4 pav. Vaizdumo dėlei iš pigmentų palikti tik chlorofilai *b614* ir *a615* bei karotenoidas neoksantinas, kadangi jų poslinkis nuo pradinės padėties baltymo grandinės atžvilgiu buvo didžiausias. Nustatant, kurie chlorofilai pasislinko labiausiai, atsižvelgta tik į jų porfirino žiedo poslinkį, kadangi stiprus fitilo uodegos pasisukimas įvyko beveik visiems chlorofilams.



4 pav. CP29 komplekso baltymo grandinė, karotenoidas neoksantinas bei chlorofilai *b614* ir *a615* trimis atvejais: pradinė struktūra iš PDB (žalia), minimalios energijos struktūra (mėlyna) ir relaksuota struktūra (rožinė).

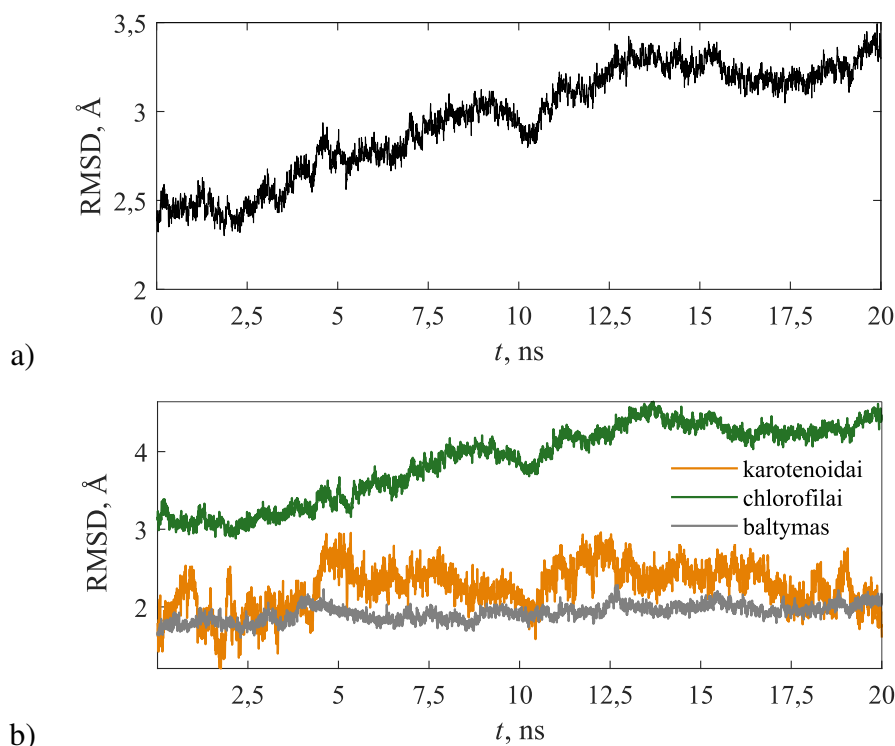
Chlorofilo *b614* žiedas pasislinko per 1,41 Å atlikus minimizaciją, ir 2,35 Å atlikus relaksaciją, lyginant su pradinėmis atomų koordinatėmis; *a615* atveju, šie poslinkiai atitinkamai yra 2,28 Å ir 2,89 Å. Visgi, kaip galima pamatyti iš 4 pav., šių chlorofilų poslinkiai yra skirtingi – *b614* pasislinko išilgai savo porfirino žiedo plokštumos, o *a615* – statmenai savo porfirino žiedo plokštumai. Didelį jų poslinkį lyginant su kitais chlorofilais galėjo lemti tai, kad jie yra išsidėstę CP29 komplekso išorinėje dalyje, tad jų judėjimas yra mažiau apribotas negu tų chlorofilų, kurie yra įsiterpę tarp baltymo grandinės. Be to, chlorofilą *a615* nuo chlorofilo *a611* skiria itin nedidelis atstumas – vos 6,65 Å tarp jų porfirino žiedų centruose esančių magnio atomų, tai yra beveik 2 Å mažesnis atstumas, negu antroje artimiausioje chlorofilų poroje. Taigi, energijos minimizacijos bei relaksacijos metu chlorofilas *a615* atsitraukė nuo šalia esančio *a611*, kas paaiškina judėjimą statmenai porfirino žiedo plokštumai. Abiejų chlorofilų atvejais jų fitilo uodegų padėtys po energijos minimizacijos

pakito nežymiai, tačiau atlikus relaksaciją šis pokytis yra akivaizdus.

Karotenoidų atveju, liuteino ir violaksantino struktūriniai pokyčiai buvo labai nedideli, ką vėlgi galima paaiškinti tuo, kad jie yra įsiterpę tarp baltymo grandinės bei kitų pigmentų, o tuo tarpu vienas neoksantino galas yra šios grandinės išorėje, ir būtent jis akivaizdžiai pasisuko atlikus relaksaciją, lyginant su pradine ir minimalios energijos struktūromis.

4.2 MD trajektorijos RMSD analizė

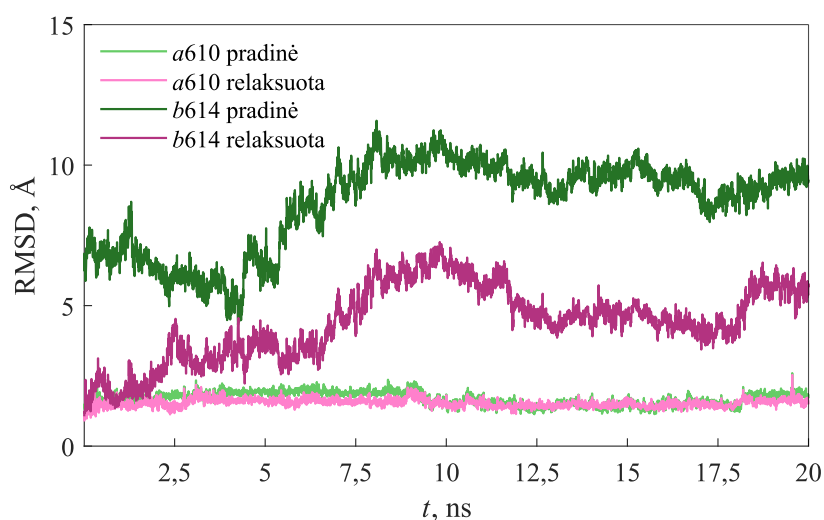
Buvo atlikta CP29 komplekso atomų molekulių dinamikos trajektorijos RMSD nuo pradinės komplekso struktūros analizė, gauta priklausomybė nuo simuliacijos laiko momento pavaizduota 5 pav. Iš 5a pav. galima pastebėti, kad pilno komplekso RMSD vertės auga iki maždaug 12,5 ns, ir toliau nusistovi tarp 3 ir 3,5 Å. Taigi, galima manyti, jog prieš simuliaciją atlikta sistemos relaksacija nebuvo užbaigta, kadangi sistema pasiekė pusiausvirą būseną tik antrojoje MD simuliacijos dalyje. Vis dėlto, negalima teigti, jog RMSD vertės ir toliau laikytųsi tokiose ribose, o to įsitikinimui reiktų atlikti žymiai ilgesnę MD simuliaciją, tačiau tai kainuotų daugiau kompiuterio resursų ir laiko. Patikrinus atskirų CP29 komplekso komponentų, t. y. baltymo, chlorofilų ir karotenoidų, RMSD vertes (5b pav.) galima pastebėti, jog 5a pav. matomą pilno komplekso RMSD kreivės pavidalą suteikia chlorofilų RMSD, o baltymo ir karotenoidų RMSD vertės yra mažesnės bei svyruoja apie tas pačias vidutines vertes visos simuliacijos metu.



5 pav. CP29 komplekso trajektorijos RMSD, lyginant su pradine komplekso struktūra: a) viso komplekso trajektorijos RMSD; b) atskirų komplekso komponentų (baltymo, chlorofilų ir karotenoidų) trajektorijų RMSD.

RMSD analizė taip pat atlikta ir kiekvienam chlorofilui atskirai. Buvo apskaičiuoti nuokrypiai nuo pradinės ir nuo relaksuotos struktūrų, į skaičiavimus įtraukiant tik chlorofilų porfirino žieduo-

se esančius natrio ir magnio atomus. Didžiausias RMSD verčių kitimas pastebėtas chlorofilo *b614* atveju, o mažiausias – *a610* atveju; abu atvejai pateikti 6 pav. Likusių chlorofilų RMSD priklausomybės nuo MD simuliacijos trukmės yra pateiktos Priede (12 pav.). Stiprūs pokyčiai taip pat stebimi *a611*, *a612* ir *a615* atvejais (12h,i,k pav.), o vieni mažiausių pokyčių – *a613* atveju (12j pav.). Vidutinės visų chlorofilų RMSD vertės abiem atvejais yra pateiktos 1 lentelėje. Galima pastebėti, kad vidutiniškai didžiausius nuokrypius chlorofilas *b614* įgavo abiem atvejais, o antri pagal didumą nuokrypiui skiriasi – lyginant su pradine struktūra, tai yra chlorofilas *a611*, o su relaksuota – *a612*. Visa tai galima paaiškinti vėlgi tuo, kad didžiausius nuokrypius įgavę chlorofilai yra baltymo grandinės išorėje ir turi daugiau judėjimo laisvės, o mažiausius – tarp baltymo grandinės. Be to, chlorofilai *a611*, *a612* ir *a615* yra išsidėstę itin arti vienas kito, dėl ko kyla stipresnės sąveikos, lemiančios didesnius padėčių pokyčius.

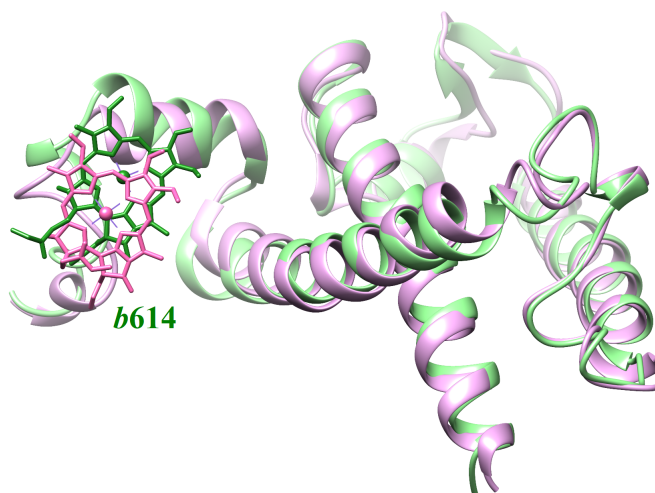


6 pav. Chlorofilų *a610* ir *b614* porfirino žiedo RMSD nuo pradinės ir relaksuotos geometrijų priklausomybė nuo MD simuliacijos trukmės t .

1 lentelėje taip pat yra surašyti atstumai tarp pradinės ir galutinės geometrijų magnio atomų kiekvieno chlorofilo atveju. Kaip ir buvo galima tikėtis, baltymo grandinės atžvilgiu daugiausia pasislinko chlorofilas *b614* (7 pav.) bei kiti didžiausias RMSD vertes įgiję chlorofilai. Neseniai išleistame straipsnyje [63], kuriame taip pat buvo atliekama CP29 komplekso molekulių dinamika, pastebėta, jog didžiausią poslinkį tarp pradinės ir galutinės struktūrų turėjo chlorofilas *a615* – gautas 7,12 Å atstumas, kas nesutampa su šiame darbe gautu rezultatu. Vis dėlto, minėtame straipsnyje toks poslinkis gautas praėjus 200 ns, o prieš tai atlikus 100 ns trukmės relaksaciją jis buvo beveik dvigubai mažesnis – 3,97 Å. Šiame darbe MD simuliacijos trukmė buvo žymiai mažesnė, tad galbūt atlikus tokios pat trukmės simuliacijas būtų gaunamas panašus rezultatas. Be to, minėtame straipsnyje skyrėsi simuliacijų dėžės paruošimas: nebuvo atsižvelgiama į protonacijos būsenas, pridėtas kitas kiekis jonų, membranai naudoti kitokio tipo fosfolipidai, gauta simuliacijų dėžė buvo mažesnė, naudoti kiti jėgų laukai (*AMBER03* baltymui [74] ir *Lipid17* lipidų membranai); be to, simuliacijoms atlikti naudotas GROMACS programinis paketas [22]. Visi išvardinti dalykai galėjo turėti įtakos skirtumams tarp gautų rezultatų.

1 lentelė. Chlorofilų RMSD vidurkiai (Å), skaičiuojant RMSD nuo pradinės (RMSD_{initial}) arba relaksuotos (RMSD_{relaxed}) struktūrų, įtraukiant tik chlorofilo porfirino žiede esančius natrio ir magnio atomus. Taip pat pateikti atstumai (Å) tarp pradinės ir galutinės kiekvieno chlorofilo magnio atomo padėties.

Chlorofilas	RMSD _{initial}	RMSD _{relaxed}	Atstumas tarp Mg
<i>a</i> 602	3,70	2,94	0,95
<i>a</i> 603	3,45	3,32	1,40
<i>a</i> 604	4,26	3,32	0,59
<i>a</i> 609	2,89	2,82	0,81
<i>a</i> 610	1,69	1,53	0,23
<i>a</i> 611	7,69	3,98	1,33
<i>a</i> 612	5,33	4,23	2,10
<i>a</i> 613	2,02	1,84	1,37
<i>a</i> 615	5,53	3,97	2,23
<i>b</i> 606	3,05	2,36	1,40
<i>b</i> 607	5,42	2,48	1,57
<i>b</i> 608	3,35	2,45	0,66
<i>b</i> 614	8,65	4,41	3,24



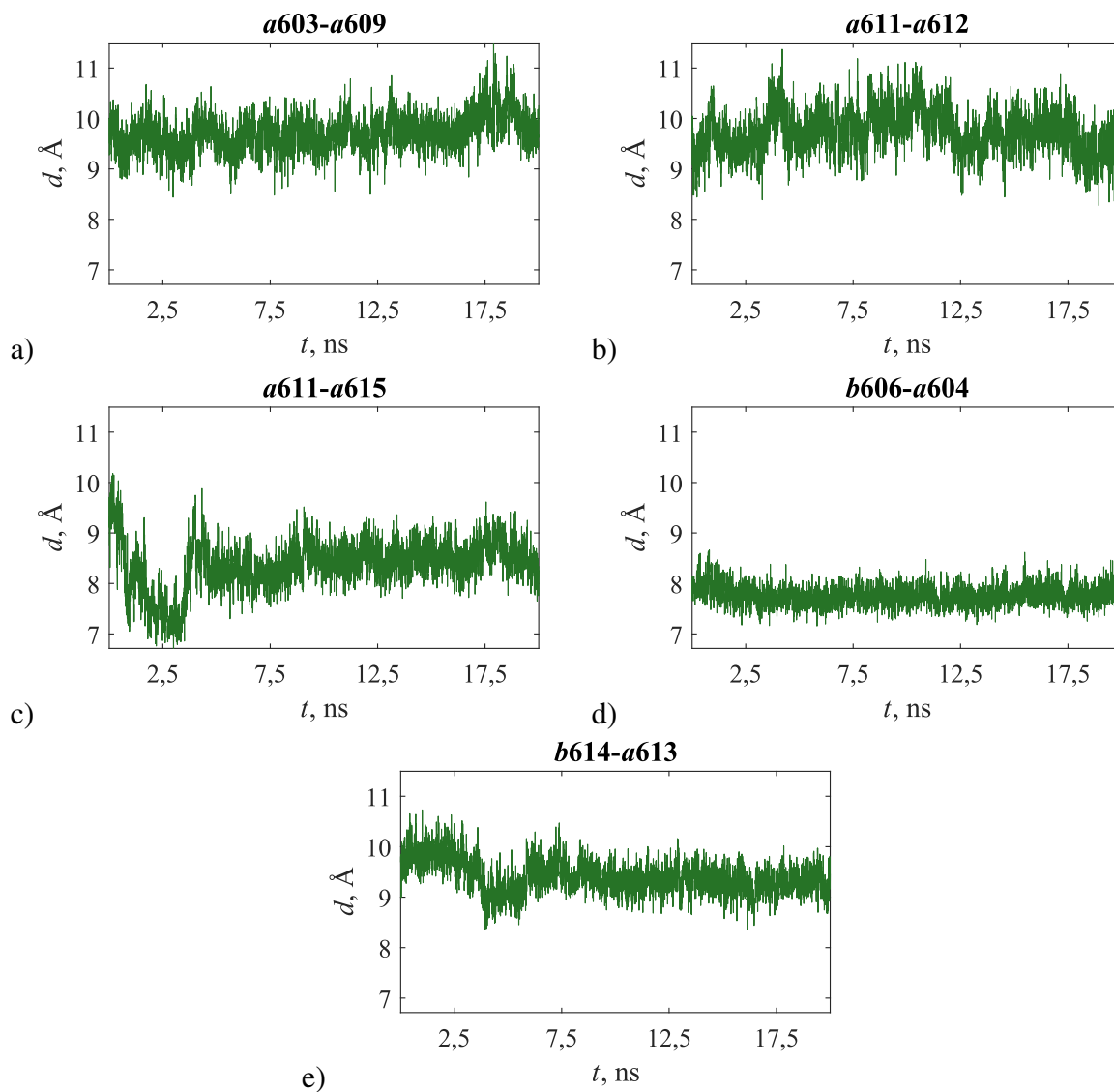
7 pav. CP29 komplekso baltymo grandinės ir chlorofilo *b*614 pradinės struktūros (žalia) palyginimas su paskutinio MD simuliacijos žingsnio geometrija (rožinė).

4.3 Chlorofilų dimerų dinamika ir CT būsenos

4.3.1 Atstumai tarp dimerus sudarančių chlorofilų

Kiekviename iš 4000 MD trajektorijos žingsnių buvo apskaičiuoti atstumai tarp dimerus sudarančių chlorofilų, rezultatai pateikti 8 pav. Galima pastebėti, jog stabiliausias atstumas buvo tarp dimero *b*606–*a*604 chlorofilų (8d pav.), kadangi jis svyravo apie tą pačią vertę visos MD simuliacijos metu, taip pat svyravimai buvo patys silpniausi, palyginus su kitais dimerais. Stipriausi svyravimai stebėti dimero *a*611–*a*612 atveju (8b pav.), čia atstumas kito tarp 9 Å ir 11 Å visos simuliacijos metu. Įdomi atstumo priklausomybė nuo simuliacijos trukmės pastebėta dimero *a*611–*a*615 atveju (8c pav.): čia atstumas pirmas 2,5 ns sumažėjo nuo 10 Å iki 7 Å, tačiau po to staigiai pakilo ir ties

5 ns nusistovėjo tarp 8 Å ir 9 Å. Ankstesniame skyrelyje buvo nustatyta, kad chlorofilų *a611*, *a612* ir *a615* RMSD nuo jų pradinių ir relaksuotų struktūrų buvo didžiausi, kas atsispindi ir stipriuose atstumo svyravimuose. Įdomu tai, kad dimerą *b614*–*a613* sudaro chlorofilų pora, kurių vienas parodė didžiausias, o kitas – vienas mažiausių RMSD verčių, tačiau atstumas tarp jų stipriai nesvyravo – laikėsi tarp 9 Å ir 10 Å, išskyrus ties 5 ns, kur pastebimas nežymus atstumo sumažėjimas (8e pav.).



8 pav. Atstumo d tarp dimero chlorofilų magnio atomų priklausomybė nuo simuliacijos trukmės t . Dimerai: a) *a603*–*a609*, b) *a611*–*a612*, c) *a611*–*a615*, d) *b606*–*a604*, e) *b614*–*a613*.

Apskaičiuotos 8 pav. pateiktų atstumų vidutinės vertės, ir jos palygintos su pradinės dimerų geometrijos atstumais 2 lentelėje. Beveik visų dimerų atvejais simuliacijos metu atstumas vidutiniškai buvo didesnis, negu pradinėje struktūroje; dimero *a611*–*a615* atveju šis pokytis didžiausias, ko ir galima tikėtis pagal 3.1 skyriaus rezultatus, kadangi jau energijos minimizacijos ir relaksacijos metu chlorofilas *a615* nutolo nuo *a611*. Vieninteliu dimero *b606*–*a604* atveju atstumas vidutiniškai buvo mažesnis MD simuliacijos metu, negu pradinės geometrijos atveju, ir, kaip jau minėta, nedaug svyravo apie lentelėje nurodytą vidutinę vertę.

Kadangi sužadintų būsenų skaičiavimai, kurie yra aptariami 4.3.3 skyrelyje, buvo atliekami 8 MD simuliacijos laiko momentais, atstumai tarp chlorofilų dimeruose būtent tais laiko momentais

2 lentelė. Atstumai (Å) tarp chlorofilų magnio atomų dimeruose pradinėje struktūroje ir vidutiniai atstumai MD simuliacijos metu.

Chl	Pradinis	Vidutinis
<i>a603–a609</i>	9,42	9,72
<i>a611–a612</i>	9,09	9,73
<i>a611–a615</i>	6,65	8,37
<i>b606–a604</i>	8,26	7,77
<i>b614–a613</i>	9,19	9,40

yra surašyti 3 lentelėje paprastesniam jų palyginimui su CT būsenų energijomis.

3 lentelė. Atstumas d ir kampas α tarp chlorofilų porfirino žiedų skirtingais MD simuliacijos laiko momentais kiekvieno dimero atveju.

Laiko momentas, ns		2,5	5	7,5	10	12,5	15	17,5	20
<i>a603–a609</i>	$d, \text{Å}$	9,33	9,69	9,49	9,50	8,88	9,91	9,87	10,26
	$\alpha, ^\circ$	18	12	17	16	18	17	18	17
<i>a611–a612</i>	$d, \text{Å}$	9,62	9,46	10,10	10,05	9,72	9,62	9,49	10,08
	$\alpha, ^\circ$	9	29	23	14	25	24	25	28
<i>a611–a615</i>	$d, \text{Å}$	7,51	7,80	8,04	8,05	8,40	8,88	9,05	8,34
	$\alpha, ^\circ$	29	40	25	35	37	36	34	41
<i>b606–a604</i>	$d, \text{Å}$	7,86	7,87	7,65	7,57	7,93	7,67	7,88	7,85
	$\alpha, ^\circ$	65	67	73	56	67	65	59	62
<i>b614–a613</i>	$d, \text{Å}$	9,81	9,21	9,70	9,81	9,59	9,44	8,95	9,46
	$\alpha, ^\circ$	50	46	46	51	57	53	44	55

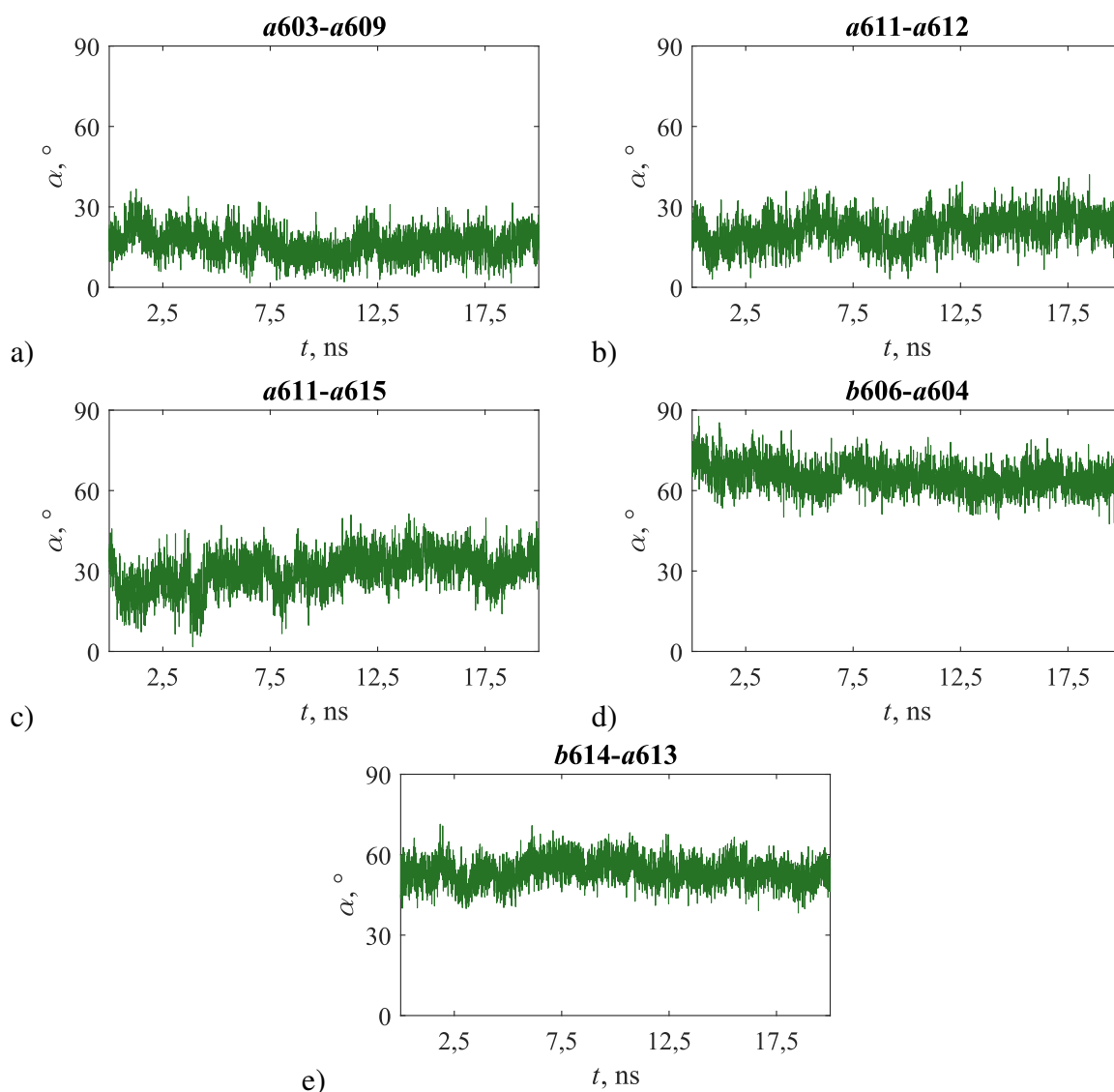
4.3.2 Dvisieniai kampai

Kiekviename trajektorijos žingsnyje buvo apskaičiuoti kampai tarp dimerus sudarančių chlorofilų porfirino žiedų, rezultatai pateikti 9 pav. Pastebėta, jog didžiausias kampas tarp chlorofilų buvo dimero *b606–a604* atveju (9d pav.), ir toks išsilaikė visos simuliacijos metu – vidutinė kampo vertė buvo 65° . Pirmą ns pastebimas kiek didesnis kampas, kuris po to šiek tiek sumažėja, ir laikosi apie vidutinę vertę, o tai panašu į atstumo tarp chlorofilų verčių priklausomybę nuo laiko momento (2d pav.), kur atstumas taip pat yra kiek didesnis pirmą ns. Kampas dimere *b614–a613* taip pat buvo didelis (2e pav.), palyginus su likusiais trimis dimerais; jo vidutinė vertė buvo 54° . Dimerų *a603–a609*, *a611–a612* ir *a611–a615* vidutinės kampų vertės atitinkamai buvo 16° , 21° ir 30° .

Be to, 3 lentelėje taip pat yra surašyti kampai tarp chlorofilų porfirino žiedų dimeruose, atitinkantys 8 MD simuliacijos laiko momentų geometrijas, paprastesniam jų palyginimui su CT būsenų energijomis.

4.3.3 Krūvio pernašos būsenos

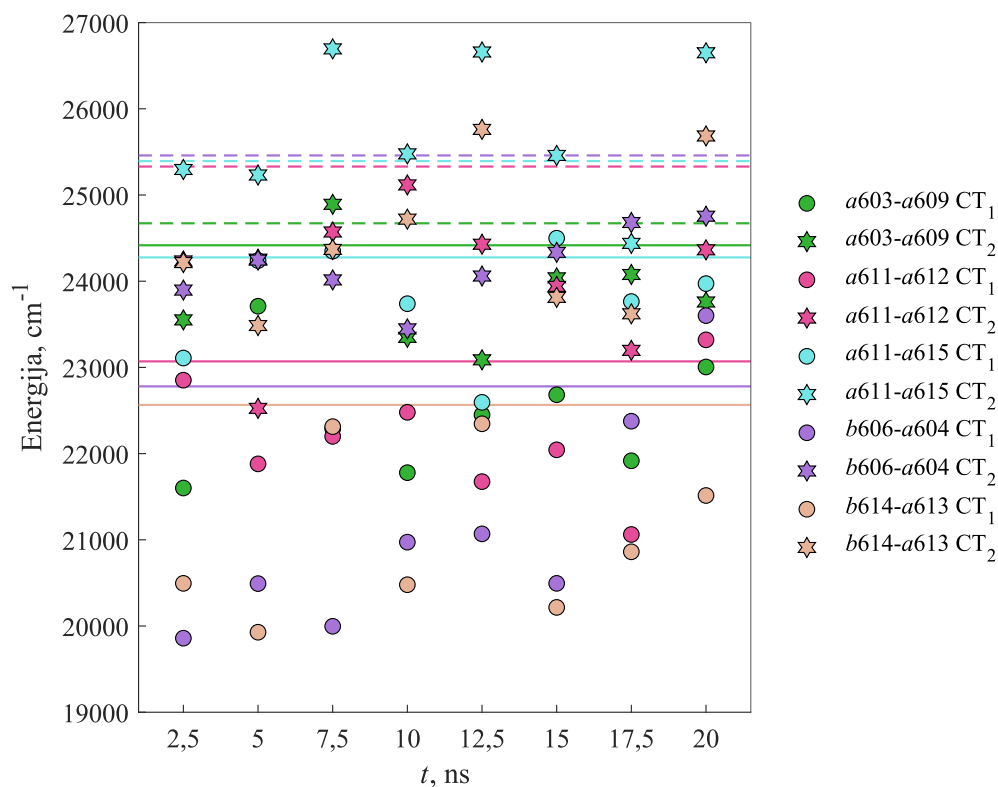
Pasirinkus 8 laiko momentus iš visos MD simuliacijos, dimerams kiekvienu laiko momentu buvo atlikti sužadintų būsenų skaičiavimai ir identifikuotos dvi žemiausios energijos CT būsenos,



9 pav. Kampas α tarp dimero chlorofilų porfirino žiedų priklausomybė nuo simuliacijos trukmės t . Dimerai: a) *a603–a609*, b) *a611–a612*, c) *a611–a615*, d) *b606–a604*, e) *b614–a613*.

kurių energijos yra vaizdžiai pateiktos 10 pav. Dauguma atvejų pirmoji ir antroji CT būsenos atitiko 5-ą ir 6-ą sužadintas būsenas. Čia taip pat pateikti ir ankstesnio darbo [13] rezultatai, kuriame CT būsenos buvo identifikuotos dimeruose, sudarytuose iš vakuume optimizuotų chlorofilų. Dimero *b614–a613* antrosios CT būsenos energija čia nepateikta, kadangi ankstesniame darbe [13] ši būsena nebuvo identifikuota.

Visų pirma, dimero *a603–a609* atveju, didžiausia pirmosios CT būsenos energijos vertė yra ties 5 ns, o visais kitais laiko momentais ji svyruoja apie panašią vertę (ties 7,5 ns jos vertė 10 pav. yra „pasislėpusi“ po *a611–a612* ir *b614–a613* pirmosios CT būsenos energijomis). Iš 3 lentelėje pateiktų duomenų galima pastebėti, jog kampas tarp *a603* ir *a609* porfirino žiedų šiuo laiko momentu yra mažiausias, o kitais atvejais svyruoja apie panašią vertę. Antrosios CT būsenos energijos net 4 iš 8 atvejų yra mažiausios, lyginant su kitų dimerų antrųjų CT būsenų energijomis, o žemiausią energiją atitinka laiko momentas 12,5 ns. Būtent šiuo momentu atstumas tarp dimero chlorofilų buvo mažiausias. Be to, šiuo laiko momentu abiejų CT būsenos yra energetiškai labai arti viena kitos, kas galbūt koreliuoja su mažiausiu atstumu ir didžiausiu kampu tarp porfirino žiedų.

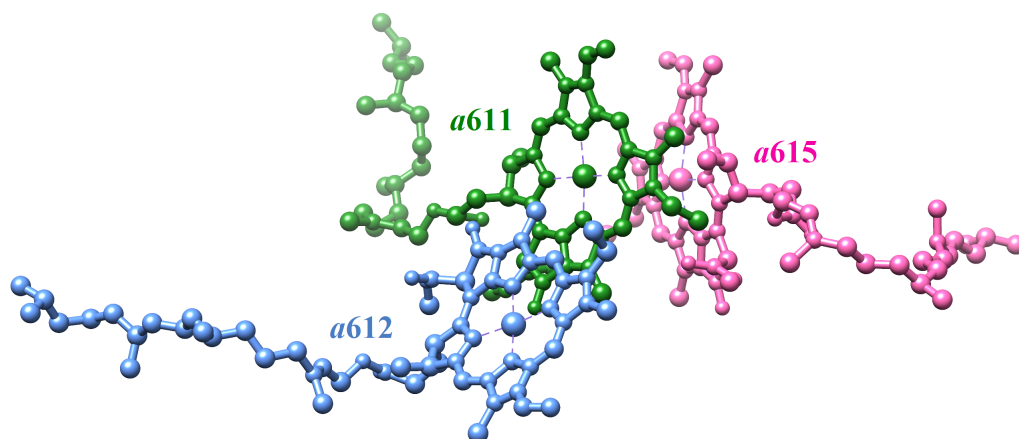


10 pav. Pirmų dviejų žemiausios energijos krūvio pernašos būsenų energijos kiekvieno dimero atveju. Vientisa linija atitinka vakuume optimizuotų chlorofilų dimerų pirmosios krūvio pernašos būsenos energiją, brūkšninė linija – antrosios krūvio pernašos būsenos energiją. Linijų spalvos atitinka legendoje nurodytas spalvas. Chlorofilo *b614–a613* atveju antroji CT būseną darbe [13] nebuvo aptikta.

Dimero *a611–a612* atveju CT būsenų energijų vertės vėlgi iš dalies koreliuoja su atstumo bei kampo tarp žiedų vertėmis. Laiko momentu 2,5 ns kampas yra vos 9° , atitinkamai ir abiejų CT būsenų energijos yra vienos didžiausių ne tik lyginant su kitais laiko žingsniais, bet ir lyginant su kitais dimerais – didesnes CT būsenų vertes šiuo atveju įgijo tik dimeras *a611–a615*, o antrosios CT būsenos energija sutapo su dimero *b614–a613* antrosios CT būsenos energija. Didžiausio kampo ir mažiausio atstumo atveju gautos ne tik mažos abiejų CT būsenų energijos, bet pastebimas ir jų verčių suartėjimas. Laiko momentu 10 ns antrosios CT būsenos energija yra didžiausia, o tai atitinka itin mažą kampą.

Dimero *a611–a615* atvejis skiriasi nuo aprašytų aukščiau: visais atvejais, išskyrus antrąją CT būseną laiko momentu 17,5 ns, šio dimero CT būsenos įgavo pačias didžiausias energijas iš visų dimerų, tačiau atstumas tarp šio dimero chlorofilų yra vienas mažiausių. Be to, netgi 3 iš 8 atvejų antroji CT būseną atitinka ne 6-ą, o 7-ą sužadintą būseną (laiko momentais 7,5 ns, 12,5 ns ir 20 ns), ir būtent jos turi didžiausias energijos vertes. Šiuo atveju sunku pastebėti koreliaciją tarp energijos verčių ir atstumų bei kampų tarp porfirino žiedų. Vis dėlto, yra vienas skirtumas tarp šio ir kitų dimerų, kuris galbūt galėjo turėti įtakos energijų vertėms: šio dimero chlorofilų porfirino žiedai yra orientuoti priešingai (vienas kito atžvilgiu pasukti 180° ir apversti pagal per azoto atomus NA ir NC einančią ašį), t. y. jų fitilo uodegos prasideda priešingose pusėse, taigi ir deguonies atomai

(3a pav.) yra priešingose pusėse, ko negalima pasakyti apie kitus dimerus, pavyzdžiui, greta esantį $a611$ – $a612$ (11 pav.), kuriame vieno iš chlorofilų porfirino žiedas yra tik apverstas pagal per azoto atomus NA ir NC einančią ašį, bet nepasuktas, tad abiejų chlorofilų pusės, kuriose yra deguonies atomai, sutampa.



11 pav. Chlorofilų orientacijos dimeruose $a611$ – $a612$ ir $a611$ – $a615$.

Dimerai $b606$ – $a604$ ir $b614$ – $a613$ turi du esminius skirtumus lyginant su likusiais dimerais: pirma – kampai tarp šių dimerų chlorofilų porfirino žiedų yra didžiausi, antra – vienas iš chlorofilų šiuose dimeruose yra b tipo, t. y. šiek tiek skiriasi šių chlorofilų sudėtis – b tipo chlorofilai turi papildomą deguonies atomą (3b pav.). Be to, atstumas tarp $b606$ – $a604$ dimero chlorofilų tirtais laiko momentais yra mažiausias, ir laiko momentu 7,5 ns pirmoji CT būseną atitiko 4-ą šio dimero sužadintą būseną. Visi šie dalykai galėjo lemti tai, kad visais atvejais vieno iš šių dimerų pirmoji CT būseną įgavo mažiausią energiją. Antrosios CT būsenos taip pat turi vienas mažiausių energijų daugeliu atvejų, tačiau laiko momentais 12,5 ns ir 20 ns dimero $b614$ – $a613$ atveju jos yra labai didelės, lyginant su kitais dimerais; tą paaiškina tai, kad būtent šiais laiko momentais antroji CT būseną atitiko 8-ą sužadintą būseną. Taip pat abiejų dimerų atvejais pastebimas atitikimas tarp CT būsenų energijų verčių ir atstumų bei kampų tarp porfirino žiedų, pavyzdžiui, dimero $b614$ – $a613$ pirmoji CT būseną yra energetiškai aukščiau ties 7,5 ns, palyginus su kitais laiko momentais, atitinkamai šiuo laiko momentu kampo vertė yra viena mažiausių, o atstumo – viena didžiausių (didelės energijos vertės ties 12,5 ns ir 20 ns, kuomet kampo vertės taip pat yra didelės, gautos todėl, kad čia pirmąją CT būseną atitinka 6-a sužadinta būseną, o ne 5-a, kaip kitais laiko momentais). Nepaisant to, kadangi abiejų šių dimerų CT būsenos įgavo mažiausias energijas dauguma atvejų, galima tikėtis, jog būtent jos dalyvauja įvairiuose fotosistemos procesuose, pavyzdžiui, NPQ.

Lyginant CT būsenų energijas su ankstesnio darbo [13] rezultatais, galima pastebėti, jog beveik visais atvejais įtraukus aplinkos įtaką CT būsenos įgauna panašias arba žemesnes energijas, negu optimizacijos vakuume atveju, kas patvirtina ankstesniuose darbuose [14, 15] padarytą išvadą. Akiivaizdžios išimtyms pastebimos tik dimero $a611$ – $a615$ antrosios CT būsenos atveju laiko momentais 7,5 ns, 12,5 ns ir 20 ns, kuomet energijos yra žymiai aukščiau, negu optimizacijos vakuume atveju, tačiau čia skiriasi ir atitinkamų sužadintų būsenų eiliškumo numeriai: šiais laiko momentais tai yra 7-a sužadinta būseną, o optimizavus geometriją vakuume antroji CT būseną atitiko 6-ą sužadintą

būseną.

Taigi, keturiais iš penkių nagrinėtų dimerų atvejais pastebėta tam tikra koreliacija tarp CT būsenų energijos ir atstumo bei kampo tarp dimerą sudarančių chlorofilų porfirino žiedų: mažesni kampai ir didesni atstumai atitiko didesnes energijos vertes, o didesni kampai ir mažesni atstumai – mažesnes. Dimero *a611–a615* atveju tokios koreliacijos pastebėti nepavyko, ir jo CT būsenų energijos visais atvejais buvo labai didelės, nepaisant nedidelio atstumo tarp chlorofilų, tačiau tam galbūt turėjo įtakos priešingai orientuoti dimerą sudarantys chlorofilai. Dimero *b606–a604* porfirino žiedai taip pat yra dalinai pasisukę vienas kito atžvilgiu, tačiau itin status kampas bei kitas chlorofilo tipas tikriausiai lėmė mažesnes energijų vertes. Be to, visais atvejais įtakos CT būsenų energijų vertėms turėjo ir jas atitinkančių sužadintų būsenų eiliškumo numeris, kaip ir buvo galima tikėtis.

Rezultatų apibendrinimas ir išvados

1. Fotosintetinio CP29 komplekso struktūra tvarkingai paruošta jėgų laukais paremtiems skaičiavimams, sėkmingai atlikta jos energijos minimizacija, relaksacija bei MD simuliacija, pasitelkiant molekulinės mechanikos metodus.
2. Atliekant energijos minimizaciją, relaksaciją ir MD simuliaciją daugiausia kito baltymo grandinės išorėje esančių chlorofilų *b614* ir *a615* padėtys.
3. Nustatyta, kad daugumoje tirtų laiko momentų mažiausios energijos CT būsenas suformavo heterodimerai *b606–a604* ir *b614–a613*, o ne Chl *a* homodimerai. Pastebėta, jog kampai tarp šiuose dimeruose esančių chlorofilų porfirino žiedų yra didžiausi. Galima manyti, jog būtent šių dimerų CT būsenos dalyvauja įvairiuose fotosistemos procesuose, pavyzdžiui, NPQ.
4. Keturiuose iš nagrinėtų penkių dimerų pastebėta koreliacija tarp CT būsenų energijų bei atstumų ir kampų tarp chlorofilų porfirino žiedų – didėjant kampui ir mažėjant atstumui mažėja energija, ir atvirkščiai. Dimero *a611–a615* atveju tokią koreliaciją pastebėti sunku, ir gautos energijų vertės yra žymiai didesnės, nei kituose dimeruose; tą galėjo lemti šio dimero chlorofilų porfirino žiedų priešinga orientacija vienas kito atžvilgiu.

Padėkos

Darbe pateikti skaičiavimai buvo atlikti su Vilniaus universiteto aukšto našumo superkompiuteriu „HPC Saulėtekis“ Fizikos fakultete.

Literatūra

- [1] R. E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Wiley-Blackwell, 2014.
- [2] R. Croce and H. Van Amerongen, Natural strategies for photosynthetic light harvesting, *Nat. Chem. Biol.*, 2014, **10**, 492–501.
- [3] H. van Amerongen and R. Croce, Light harvesting in photosystem II, *Photosynth. Res.*, 2013, **116**, 251–263.
- [4] A. Krieger-Liszkay, C. Fufezan, and A. Trebst, Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism, *Photosynth. Res.*, 2008, **98**, 551–564.
- [5] P. Müller, X.-P. Li, and K. K. Niyogi, Non-photochemical quenching. A response to excess light energy, *Plant Physiol.*, 2001, **125**, 1558–1566.
- [6] A. Dreuw, G. R. Fleming, and M. Head-Gordon, Charge-transfer state as a possible signature of a zeaxanthin-chlorophyll dimer in the non-photochemical quenching process in green plants, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 6500–6503.
- [7] Y.-Z. Ma, N. E. Holt, X.-P. Li, K. K. Niyogi, and G. R. Fleming, Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2003, **100**, 4377–4382.
- [8] Y. Miloslavina, A. Wehner, P. H. Lambrev, *et al.*, Far-red fluorescence: a direct spectroscopic marker for LHCII oligomer formation in non-photochemical quenching, *FEBS Lett.*, 2008, **582**, 3625–3631.
- [9] E. E. Ostroumov, J. P. Götze, M. Reus, P. H. Lambrev, and A. R. Holzwarth, Characterization of fluorescent chlorophyll charge-transfer states as intermediates in the excited state quenching of light-harvesting complex II, *Photosynth. Res.*, 2020, **144**, 171–193.
- [10] A. Kell, X. Feng, C. Lin, *et al.*, Charge-transfer character of the low-energy chl *a* Q_y absorption band in aggregated light harvesting complexes II, *J. Phys. Chem. B*, 2014, **118**, 6086–6091.
- [11] M. Wahadoszamen, A. Ghazaryan, H. E. Cingil, A. M. Ara, C. Büchel, R. van Grondelle, and R. Berera, Stark fluorescence spectroscopy reveals two emitting sites in the dissipative state of FCP antennas, *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, **1837**, 193–200.
- [12] T. K. Ahn, T. J. Avenson, M. Ballottari, Y.-C. Cheng, K. K. Niyogi, R. Bassi, and G. R. Fleming, Architecture of a charge-transfer state regulating light harvesting in a plant antenna protein, *Science*, 2008, **320**, 794–797.
- [13] S. Barysaitė, Fotosintetinio CP29 komplekso chlorofilų elektroninio sužadavimo būsenos, magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas I/III d., Vilniaus universitetas, 2023.

- [14] S. Barysaitė, Baltyminės aplinkos poveikis fotosintetinio CP29 komplekso krūvio pernašos būsenoms, magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas II/III d., Vilniaus universitetas, 2023.
- [15] S. Barysaitė, Fotosintetinių sistemų molekulinė dinamika, magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas III/III d., Vilniaus universitetas, 2024.
- [16] M. Elstner and G. Seifert, Density functional tight binding, *Phil. Trans. R. Soc. A*, 2014, **372**, 20120483.
- [17] K. Binder, J. Horbach, W. Kob, W. Paul, and F. Varnik, Molecular dynamics simulations, *J. Phys. Condens. Mat.*, 2004, **16**, S429–S453.
- [18] A. Warshel and M. Levitt, Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme, *J. Mol. Biol.*, 1976, **103**, 227–249.
- [19] J. A. McCammon, B. R. Gelin, and M. Karplus, Dynamics of folded proteins, *Nature*, 1977, **267**, 585–590.
- [20] S. A. Hollingsworth and R. O. Dror, Molecular dynamics simulation for all, *Neuron*, 2018, **99**, 1129–1143.
- [21] D. A. Case, H. M. Aktulga, K. Belfon, *et al.*, Amber 2023, 2023. University of California, San Francisco.
- [22] M. Abraham, A. Alekseenko, C. Bergh, *et al.*, GROMACS 2023.3 Manual, 2023. Zenodo.
- [23] B. R. Brooks, C. L. Brooks III, A. D. Mackerell Jr, *et al.*, CHARMM: the biomolecular simulation program, *J. Comput. Chem.*, 2009, **30**, 1545–1614.
- [24] N. Liguori, R. Croce, S. J. Marrink, and S. Thallmair, Molecular dynamics simulations in photosynthesis, *Photosynth. Res.*, 2020, **144**, 273–295.
- [25] K. Ogata, T. Yuki, M. Hatakeyama, W. Uchida, and S. Nakamura, All-atom molecular dynamics simulation of photosystem II embedded in thylakoid membrane, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 15670–15673.
- [26] Y. Lahav, D. Noy, and I. Schapiro, Spectral tuning of chlorophylls in proteins—electrostatics vs. ring deformation, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2021, **23**, 6544–6551.
- [27] X. Wang, Method of steepest descent and its applications, *IEEE Microw. Wirel. Compon. Lett.*, 2008, **12**, 24–26.
- [28] R. Fletcher and C. M. Reeves, Function minimization by conjugate gradients, *Comput. J.*, 1964, **7**, 149–154.

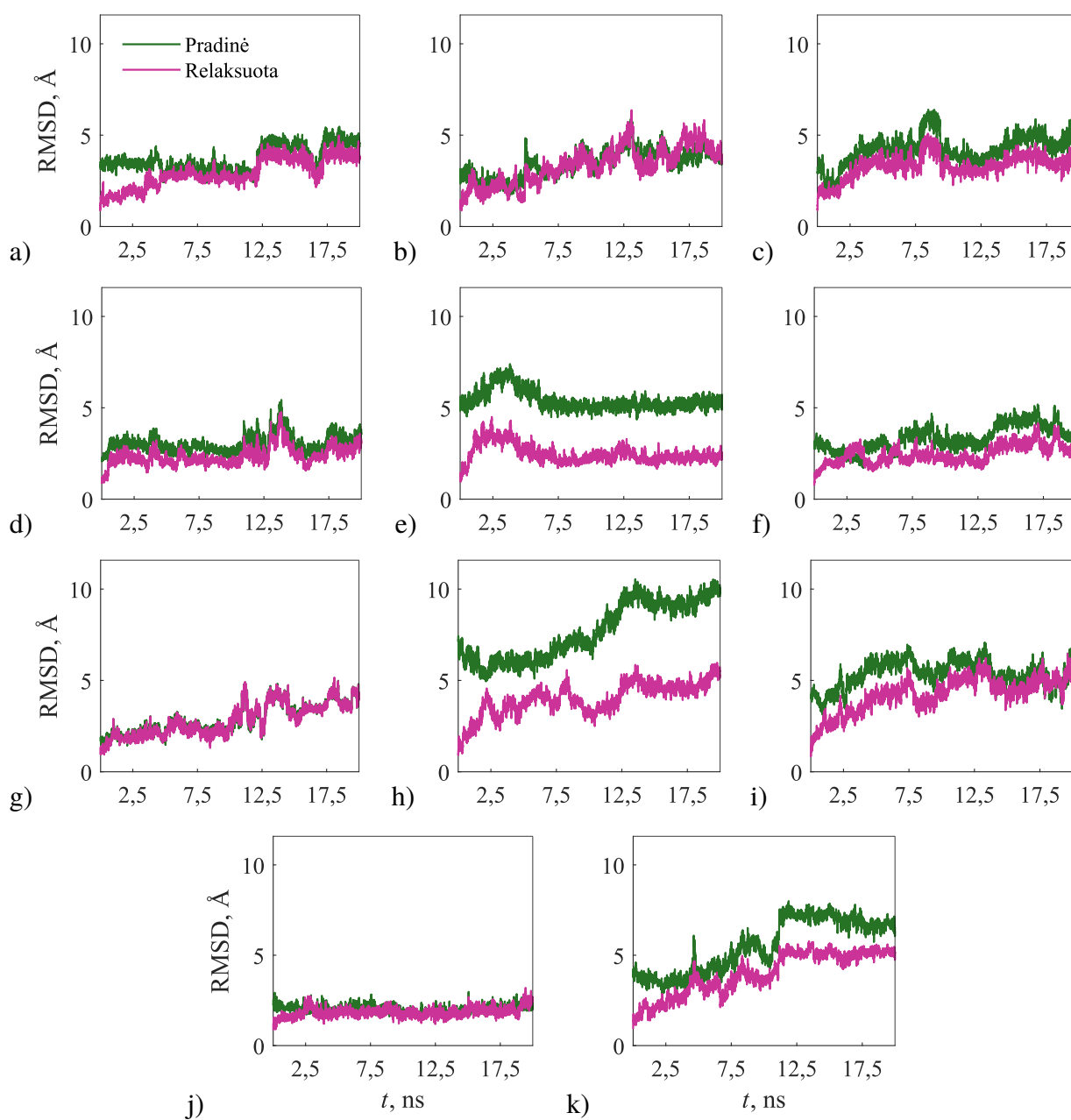
- [29] D. Frenkel and B. Smit, *Understanding molecular simulation, 2nd edition*. San Diego: Academic Press, 2002.
- [30] J. W. Ponder and D. A. Case, Force fields for protein simulations, *Adv. Prot. Chem.*, 2003, **66**, 27–85.
- [31] C. Tian, K. Kasavajhala, K. A. A. Belfon, *et al.*, ff19SB: Amino-acid-specific protein backbone parameters trained against quantum mechanics energy surfaces in solution, *J. Chem. Theory Comput.*, 2019, **16**, 528–552.
- [32] S. Izadi, R. Anandakrishnan, and A. V. Onufriev, Building water models: a different approach, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2014, **5**, 3863–3871.
- [33] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein, Comparison of simple potential functions for simulating liquid water, *J. Chem. Phys.*, 1983, **79**, 926–935.
- [34] J. A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K. E. Hauser, and C. Simmerling, ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB, *J. Chem. Theory Comput.*, 2015, **11**, 3696–713.
- [35] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. A. Case, Development and testing of a general Amber force field, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 1157–1174.
- [36] I. G. Prandi, L. Viani, O. Andreussi, and B. Mennucci, Combining classical molecular dynamics and quantum mechanical methods for the description of electronic excitations: The case of carotenoids, *J. Comput. Chem.*, 2016, **37**, 981–991.
- [37] C. I. Bayly, P. Cieplak, W. Cornell, and P. A. Kollman, A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model, *J. Phys. Chem.*, 1993, **97**, 10269–10280.
- [38] J. Cerezo, J. Zuniga, A. Bastida, A. Requena, and J. P. Ceron-Carrasco, Conformational changes of β -carotene and zeaxanthin immersed in a model membrane through atomistic molecular dynamics simulations, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 6527–6538.
- [39] L. Zhang, D.-A. Silva, Y. Yan, and X. Huang, Force field development for cofactors in the photosystem II, *J. Comput. Chem.*, 2012, **33**, 1969–1980.
- [40] J. C. Slater, A simplification of the Hartree-Fock method, *Phys. Rev.*, 1951, **81**, 385–390.
- [41] A. M. Rosnik and C. Curutchet, Theoretical characterization of the spectral density of the water-soluble chlorophyll-binding protein from combined quantum mechanics/molecular mechanics molecular dynamics simulations, *J. Chem. Theory Comput.*, 2015, **11**, 5826–5837.
- [42] P. W. Atkins and R. S. Friedman, *Molecular Quantum Mechanics, Fourth Edition*. New York: Oxford University Press, 2005.

- [43] E. Lewars, *Computational Chemistry, Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics, Third Edition*. Springer, 2016.
- [44] P. Hohenberg and W. Kohn, Inhomogeneous electron gas, *Phys. Rev.*, 1964, **136**, B864–B871.
- [45] W. Kohn and L. J. Sham, Self-consistent equations including exchange and correlation effects, *Phys. Rev.*, 1965, **140**, A1133–A1138.
- [46] M. A. L. Marques and E. K. Gross, Time-dependent density functional theory, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2004, **55**, 427–455.
- [47] M. A. L. Marques, C. A. Ullrich, F. Nogueira, A. Rubio, K. Burke, and E. K. U. Gross, *Time-Dependent Density Functional Theory*. Berlin: Springer, 2006.
- [48] E. Runge and E. K. Gross, Density-functional theory for time-dependent systems, *Phys. Rev. Lett.*, 1984, **52**, 997–1000.
- [49] S. F. Boys, Electronic wave functions. I. A general method of calculation for the stationary states of any molecular system, *Proc. R. Soc. London Ser. A*, 1950, **200**, 542–554.
- [50] J. C. Slater, Atomic shielding constants, *Phys. Rev.*, 1930, **36**, 57–64.
- [51] R. Ditchfield, W. J. Hehre, and J. A. Pople, Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules, *J. Chem. Phys.*, 1971, **54**, 724–728.
- [52] V. A. Rassolov, J. A. Pople, M. A. Ratner, and T. L. Windus, 6-31G* basis set for atoms K through Zn, *J. Chem. Phys.*, 1998, **109**, 1223–1229.
- [53] A. D. Becke, A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories, *J. Phys. Chem.*, 1993, **98**, 1372–1377.
- [54] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, and M. J. Frisch, Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields, *J. Phys. Chem.*, 1994, **98**, 11623–11627.
- [55] R. G. Parr and W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. New York: Oxford University Press, 1994.
- [56] G. L. Oliver and J. P. Perdew, Spin-density gradient expansion for the kinetic energy, *Phys. Rev. A*, 1979, **20**, 397–403.
- [57] A. D. Becke, Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior, *Phys. Rev. A*, 1988, **38**, 3098–3100.
- [58] C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785–789.

- [59] S. H. Vosko, L. Wilk, and M. Nusair, Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis, *Can. J. Phys.*, 1980, **58**, 1200–1211.
- [60] T. Yanai, D. P. Tew, and N. C. Handy, A new hybrid exchange-correlation functional using the coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP), *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **393**, 51–57.
- [61] Y. Tawada, T. Tsuneda, S. Yanagisawa, T. Yanai, and K. Hirao, A long-range-corrected time-dependent density functional theory, *J. Chem. Phys.*, 2004, **120**, 8425–8433.
- [62] X. Pan, M. Li, T. Wan, *et al.*, Structural insights into energy regulation of light-harvesting complex CP29 from spinach, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2011, **18**, 309–315.
- [63] S. Maity, P. Sarngadharan, V. Daskalakis, and U. Kleinekathöfer, Time-dependent atomistic simulations of the CP29 light-harvesting complex, *J. Chem. Phys.*, 2021, **155**, 055103.
- [64] S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer, and W. Im, CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM, *J. Comput. Chem.*, 2008, **29**, 1859–1865.
- [65] “RCSB Protein Data Bank.” <https://www.rcsb.org/>. Paskutinį kartą peržiūrėta: 2024-05-08.
- [66] M. H. M. Olsson, C. R. Søndergaard, M. Rostkowski, and J. H. Jensen, PROPKA3: consistent treatment of internal and surface residues in empirical pKa predictions, *J. Chem. Theory Comput.*, 2011, **7**, 525–537.
- [67] C. R. Søndergaard, M. H. M. Olsson, M. Rostkowski, and J. H. Jensen, Improved treatment of ligands and coupling effects in empirical calculation and rationalization of pKa values, *J. Chem. Theory Comput.*, 2011, **7**, 2284–2295.
- [68] “Orientations of Proteins in Membranes (OPM) database.” <https://opm.phar.umich.edu/>. Paskutinį kartą peržiūrėta: 2024-05-08.
- [69] E. Elias, N. Liguori, and R. Croce, The origin of pigment-binding differences in CP29 and LHClI: the role of protein structure and dynamics, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2023, **22**, 1279–1297.
- [70] J.-P. Ryckaert, G. Ciccotti, and H. J. C. Berendsen, Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of *n*-alkanes, *J. Comput. Phys.*, 1977, **23**, 327–341.
- [71] M. Lapillo, E. Cignoni, L. Cupellini, and B. Mennucci, The energy transfer model of non-photochemical quenching: Lessons from the minor CP29 antenna complex of plants, *Biochim. Biophys. Acta*, 2020, **1861**, 148282.
- [72] D. R. Roe and T. E. Cheatham III, PTRAJ and CPPTRAJ: software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data, *J. Chem. Theory Comput.*, 2013, **9**, 3084–3095.

- [73] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, and T. E. Ferrin, UCSF chimera — a visualization system for exploratory research and analysis, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 1605–1612.
- [74] Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, *et al.*, A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations, *J. Comput. Chem.*, 2003, **24**, 1999–2012.

Priedas



12 pav. Chlorofilų porfirino žiedo RMSD nuo pradinės ir relaksuotos geometrijų priklausomybė nuo MD simuliacijos trukmės t . Chlorofilai: a) $a602$, b) $a603$, c) $a604$, d) $b606$, e) $b607$, f) $b608$, g) $a609$, h) $a611$, i) $a612$, j) $a613$, k) $a615$.

Molecular Dynamics of Photosynthetic Light-Harvesting Complex CP29

Sandra Barysaitė

Summary

Light harvesting is carried out by photosystems I and II (PSI and PSII) that are located in the thylakoid membrane of chloroplasts. Excessive light can cause photo-oxidative damage to the plant, so for this reason they have developed protective mechanisms such as nonphotochemical quenching (NPQ). Quenching sites have been identified in LHCII and CP29 complexes of PSII. NPQ in LHCII is thought to be correlated with Chl–Chl charge-transfer (CT) states so this could also be the case for CP29. CT states can be analyzed using quantum mechanics, however, it is known that the energies of CT states are sensitive to small conformational changes of the target system, so molecular dynamics (MD) simulations could be employed to analyze this dependence; using quantum mechanical methods for different conformational states of a system that is composed of several thousand atoms would be computationally expensive. The aim of this work was to perform a molecular dynamics simulation of light-harvesting complex CP29 and to analyze the geometries and CT states of Chl–Chl dimers at different moments of simulation.

The high resolution crystal structure of spinach photosynthetic complex CP29 (PDB ID: 3PL9) was inserted into DOPC lipid bilayer membrane and solvated in water using CHARMM-GUI tool. Pigments were described using force field (FF) parameters from literature, and Amber FFs *ff14SB*, *Lipid21* and *TIP3P* were used to describe the protein chain, membrane and water respectively. Hydrogen atoms and ions were added using LEaP tool. A three-step energy minimization, a 1 ns heating simulation, a 5 ns relaxation simulation and a 20 ns production simulation were performed using Amber. A root-mean-square deviation (RMSD) analysis of resulting trajectory was performed using Cpptraj tool, and excited states of dimers were calculated using time-dependent density functional theory (TD-DFT) at 8 different time steps.

It was found that during the energy minimization, relaxation and MD simulation chlorophylls *b614* and *a615* had the biggest structural and positional changes; the difference between the initial and final position of Chl *b614* porphyrin ring was 3,24 Å. Ten CT states were identified in five Chl dimers, with the lowest energy CT states forming in dimers *b606–a604* and *b614–a613*; the CT states in these two dimers are most likely to take part in PSII processes such as NPQ. The time dependences of the distance and the angle between chlorophyll porphyrin rings in a dimer were calculated and compared with the changes in energies of the identified CT states. In four of the five analyzed dimers a correlation between the energies of the CT states and the distances and the angles between chlorophyll porphyrin rings was observed – smaller distances and bigger angles corresponded to lower energies. This correlation was not observed in dimer *a611–a615*; this could be explained by the fact that the chlorophyll porphyrin rings in this dimer are facing each other asymmetrically.