

УДК 577.322:539.196.3

## КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФРАГМЕНТА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ БАКТЕРИИ С ПОВЕРХНОСТЬЮ КРЕМНИЯ

В.А. БУРКО, Я.В. ДОЛГАЯ, В.Р. СТЕМПИЦКИЙ, Т.В. РОМАНОВСКАЯ\*

Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники  
П. Бровка, 6, Минск, 220013, Беларусь

\*Институт микробиологии НАН Беларуси

Поступила в редакцию 25 июня 2014

Представлены результаты исследования механизмов взаимодействия между фрагментом клеточной стенки бактерии и поверхностью кремния посредством проведения компьютерного моделирования с использованием квантово-механических методов. Рассмотрены механизмы взаимодействия O-Si, O-H-Si, где кислород принадлежит биомолекуле, а водород и кремний – подложке.

*Ключевые слова:* методы квантовой механики, NWChem, пористый кремний, муреин.

### Введение

Необходимость создания безопасных и эффективных биологических препаратов для борьбы с болезнями, вызываемыми фитопатогенными грибами и бактериями, непрерывно связана с высокой токсичностью химических пестицидов, приводящей к целому ряду экологических проблем. Преимуществами биопестицидов, по сравнению с химическими пестицидами, является высокая избирательность действия на вредные организмы и меньшая токсичность для нецелевых видов, что позволяет отнести многие биопестициды к средствам защиты растений с низким уровнем экологической опасности и риска применения. В качестве компонента такого препарата используются эндофитные бактерии, которые способны проникать во внутренние ткани растений и предотвращать попадание возбудителей болезней в растительный организм.

Проблема эксплуатации биологических препаратов, таких как биопестициды, заключается в необходимости соблюдения строгих условий хранения. Для решения этой проблемы предложено использовать пористые материалы, такие как пористый кремний, в качестве «контейнера» для хранения и транспортировки бактерий. Клетки, расположенные на поверхности пористого материала, обеспечиваются питательными веществами, газами и биологически активными веществами как из раствора, так и из пор. Таким образом, пористая поверхность может предложить для клеток более постоянную среду, которая имитирует *in vivo*. Это позволяет продлевать сроки хранения препарата и замедлить ферментативный процесс.

Вследствие вышеперечисленного возникает задача взаимодействия бактерий с поверхностями пористых материалов. Проблема иммобилизации биологически активных организмов встречается в большом количестве литературных источников, в которых рассмотрены различные варианты обработки поверхности пор и различные среды, увеличивающие вероятность иммобилизации бактерий в порах [1–3].

Выбор пористого кремния в качестве материала подложки связан с его хорошо изученными химическими, физическими и геометрическими свойствами, в том числе и для биологического применения: гидрофильность или гидрофобность поверхности кремния внутри

поры, электрический заряд на поверхности пористого кремния, размер и упорядоченность пор и другие.

В качестве объекта исследования выбрана бактерия *Bacillus subtilis*, иммобилизованная в кремниевой поре, относящаяся к группе грамположительных бактерий. У данного типа бактерий в состав клеточных стенок входят мукопептиды, полисахариды (сложные, высокомолекулярные сахара), тейхоевые кислоты (сложные по составу и структуре соединения, состоящие из сахаров, спиртов, аминокислот и фосфорной кислоты) [4]. Полисахариды и тейхоевые кислоты связаны с каркасом стенок – муреином, или пептидогликаном (рис. 1). Полисахаридный скелет молекулы представляет собой чередующиеся остатки *N*-ацетилглюкозамина и *N*-ацетилмурамовой кислоты, соединенных между собой посредством  $\beta$ -1,4- гликозидных связей. Структура пептидогликана представлена на рис. 1, где 1 и 2 – места полимеризации гликанового остова молекулы, 3 – место присоединения с помощью фосфордиэфирной связи молекулы тейхоевой кислоты в клеточной стенке грамположительных бактерий, 4 и 5 – места, по которым происходит связывание между гликановыми цепями с помощью пептидных связей.

Частота «сшивок» различна, поскольку не все пептидные хвосты участвуют в формировании межцепочечных связей. Некоторые образуют ковалентные связи с другими химическими молекулами, входящими в состав клеточной стенки, и часть тетрапептидных хвостов находится в свободном состоянии. Как показано на рис. 1, к *N*-ацетилмурамовой кислоте присоединен короткий пептидный хвост, состоящий из небольшого числа (обычно 4-5) аминокислот.

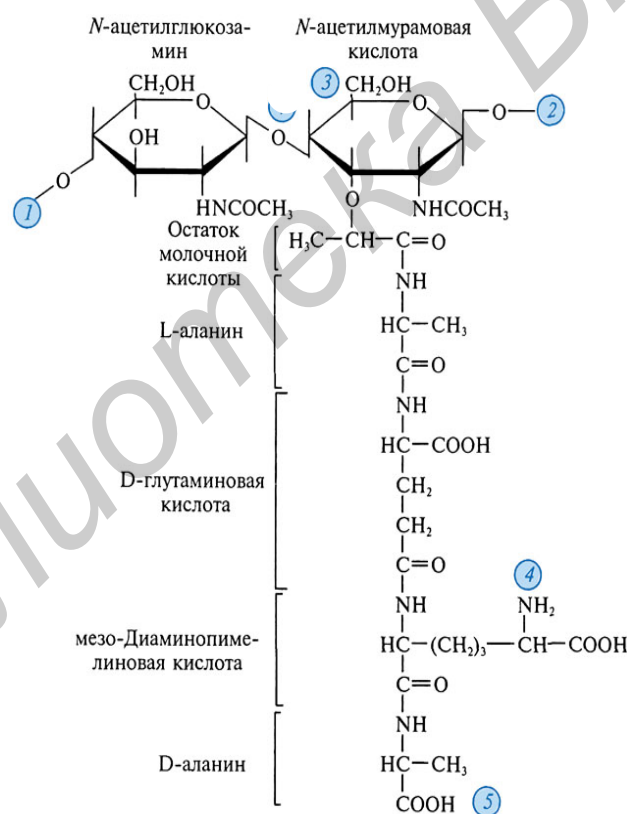


Рис. 1. Структура молекулы муреина грамположительных бактерий

### Методика исследования

Для исследования механизмов взаимодействия использовался метод квантовой механики, основанный на уравнении Шредингера.

Для совокупности  $N$  взаимодействующих частиц с потенциальной энергией  $U$  и массами  $m_k$  в декартовой системе координат оно имеет вид

$$-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{k=1}^N \frac{1}{m_k} \left[ \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x_k^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial y_k^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z_k^2} \right] + \hat{U} \Psi = i\hbar \frac{\partial \Psi}{\partial t}, \quad (1)$$

где  $\Psi(x, y, z, t)$  – волновая функция совокупности координат системы частиц и времени;  $\hat{U}$  – оператор потенциальной энергии.

Суммирование производится по всем частицам. Если вероятность обнаружить частицу в некоторой области пространства не зависит от времени, а только от места расположения этой точки в пространстве, такое состояние системы называется стационарным, и описывается уравнением Шредингера, не зависящим от времени:

$$-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{k=1}^N \frac{1}{m_k} \left[ \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x_k^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial y_k^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z_k^2} \right] + \hat{U} \Psi = E \Psi. \quad (2)$$

Параметр  $E$  – есть собственное значение стационарного уравнения Шредингера. В результате решения уравнения (2) находят собственные (возможные) значения параметра  $E$  и соответствующие ему решения – собственные функции.

В настоящее время существует достаточное количество методик и упрощений для решения уравнения Шредингера. К наиболее распространенным методам относят метод Хартри Фока (HF, UHF, RHF), метод самосогласованного поля (SCF), а также методы, основанные на теории возмущений (теория возмущений Меллера-Плессета, MPn).

При проведении компьютерных расчетов использовался метод Хартри-Фока. При реализации данного метода используются следующие приближения:

- 1) пренебрежение всеми физическими эффектами, кроме притяжения электронов к ядрам и отталкивания электронов друг от друга;
- 2) состояние молекулы стационарно (ее энергия  $E$  не зависит от времени);
- 3) ядра атомов неподвижны и их координаты точно определены.

Первое условие предполагает и пренебрежение всеми релятивистскими эффектами. Второе условие обосновано, если внешние поля и другие воздействия на молекулу в данный момент несущественны. Третье условие называется адиабатическим приближением и является приближенным требованием, поскольку ядра очень тяжелые и движутся очень медленно.

Поскольку при исследовании механизмов взаимодействия необходимо сравнивать энергии и другие свойства системы с замкнутой оболочкой и родственной ей системы с открытой оболочкой, выбран ограниченный метод Хартри-Фока для открытой оболочки (Restricted Open-shell Hartree-Fock method, ROHF), в котором замкнутые и открытые оболочки описаны по-разному [5].

### Результаты и их обсуждение

Анализ активных участков молекулы пептидогликана (муреина) показал наличие двойной связи между кислородом и углеродом, которая включает в себя  $\pi$ - и  $\sigma$ -связи, причем первая значительно слабее второй. Можно предположить, что при взаимодействии с подложкой эта  $\pi$ -связь будет разрушаться и принимать участие во взаимодействии с подложкой.

Рассмотрены два механизма образования новой связи кислорода с подложкой: C-O-H-Si и C-O-Si (см. рис. 2), причем в первом случае вероятно образование водородной связи, в то время как во втором случае – наиболее вероятно образование ковалентной связи. Вычисления проводились в программном комплексе NWChem [6]. С целью сокращения машинного времени, для атомов, участвующих во взаимодействиях, использовался базис более высокого порядка, по сравнению с базисом для атомов, которые не принимают во взаимодействии с подложкой непосредственного участия – 6-31G\* и 3-21G, соответственно. В таблице представлены расстояния между органической молекулой и подложкой до оптимизации геометрии с целью поиска энергетического минимума энергии и после нее.

Результаты проведенных расчетов показали, что при взаимодействии фрагмента клеточной стенки с поверхностью кремния по механизму C-O-Si, как и предсказывалось, может образовываться ковалентная связь Si-O, длиной ~ 0,17 нм.

**Результат вычисления расстояния между атомами: Si-O при взаимодействии органической молекулы с атомом кремния непосредственно, H-O при взаимодействии посредством водорода**

Механизм C-O-Si					
Начальное расстояние Si-O, нм	0,1400	0,1600	0,1800	0,2000	0,2400
Конечное расстояние Si-O, нм	0,1675	0,1681	0,6052	0,6270	0,3789
Механизм C-O-H-Si					
Начальное расстояние H-O, нм	0,0900	0,1000	0,1100	0,1400	0,1800
Конечное расстояние H-O, нм	0,3053	0,3053	0,3003	0,2903	0,2925

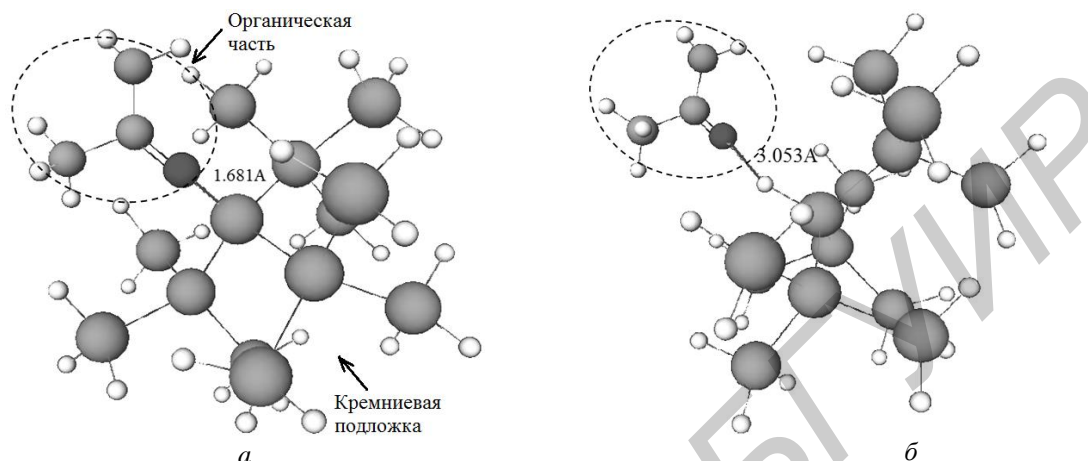


Рис. 2. Механизмы взаимодействия: *a* – C-O-Si; *б* – C-O-H-Si

На рис. 3, *a* изображен график зависимости энергии связи от расстояния между взаимодействующими атомами (Si-O). Видно, что минимальная энергия соответствует расстоянию ~ 0,17 нм. Из графика, изображенного на рис. 3, *б*, видно, что энергия системы меньше при отдалении органической молекулы и подложки друг от друга. Это говорит о том, что взаимодействие по механизму C-O-H-Si не приводит к образованию ни ковалентной, ни водородной связи.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что бактерия будет иммобилизоваться посредством образования химических связей на кремниевой подложке, поверхность которой очищена от водорода.

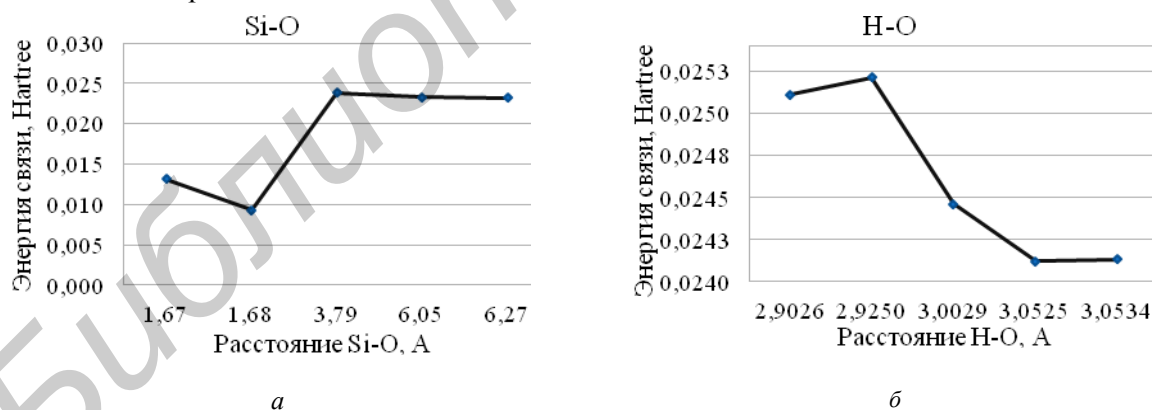


Рис. 3. Зависимость энергии связи от расстояния: *a* – Si-O для механизма C-O-Si; *б* – H-O для механизма C-O-H-Si

### Заключение

Результаты проведенного посредством компьютерного моделирования исследования механизмов взаимодействия клеточной стенки грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* с поверхностью кремния позволяют сделать следующие выводы.

Клеточная стенка грамположительных бактерий, к которым относится исследуемая бактерия, представляет собой цепочки чередующихся пептидогликанов, пронизанных тейхоевыми кислотами.

Детальное изучение природы взаимодействия «бактерия-поверхность кремния» показало, что наиболее вероятным механизмом взаимодействия будет образование связи C-O-H-Si либо C-O-Si между углеродом и кислородом N-ацетилглюкозамина, объединенных двойной связью, и атомом водорода, связанным с атомом кремния подложки, либо непосредственно с кремнием.

Установлено, что минимум полной энергии взаимодействия «фрагмент органической молекулы – поверхность кремния» по механизму C-O-Si наблюдается при расстоянии между взаимодействующими частями 1,68 Å, что соответствует длине связи Si-O. То есть взаимодействие по механизму C-O-Si приводит к образованию ковалентной связи.

Для механизма C-O-H-Si из полученных результатов минимум явно не прослеживается. Это свидетельствует о том, что при наличии атома водорода, связь между органической молекулой и поверхностью кремния не образуется.

Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что для лучшей иммобилизации бактерии на поверхности кремния необходимо обеспечить отсутствие атомов водорода на поверхности.

## QUANTUM-MECHANICAL SIMULATION OF INTERACTION MECHANISMS BETWEEN FRAGMENT OF BACTERIA CELL WALL AND SILICON SURFACE

V.V. BURKO, Y.V. DOUHAYA, V.R. STEMPIITSKY, T.V. ROMANOVSKAJA

### Abstract

The results of investigation the mechanisms of interaction between fragment of bacterial cell wall and silicon surface via quantum-mechanical methods are presented. The main attention given to the interaction mechanisms oxygen-silicon and oxygen-hydrogen-silicon, where oxygen belongs to biomolecule and silicon and hydrogen belongs to silicon substrate.

### Список литературы

1. *Chiadini F., Fiumara V., Scaglione A., et. al* // J. Photon. Energy. 2013. Vol. 3(1). P. 034596.
2. *LaVan D. A., McGuire T., Langer R.* // Nature Biotechnology. 2003. Vol. 21(10). P. 1184–1191.
3. *Ulbrich M., Fromherz P.* // Adv. Mater. 2001. Vol. 13. P. 344.
4. *Kunst F., Ogasawara N., Moszer I.* // NATURE. 1997. Vol. 390. P. 249–256.
5. *Игнатов С.К.* Квантово-химическое моделирование молекулярной структуры, физико-химических свойств и реакционной способности: учебно-методический материал по программе повышения квалификации. Нижн. Новгород, 2006.
6. NWChem Official Site. [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.nwchem-sw.org>. – Date of access: 4.01.2014.