

Спектральные проявления молекулярных механизмов образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза

© И.Л. Пластун, А.А. Захаров, А.А. Наумов, П.А. Жулидин, П.Д. Филин

Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина,

410054 Саратов, Россия

e-mail: inna_pls@mail.ru

Поступила в редакцию 05.01.2021 г.

В окончательной редакции 12.02.2021 г.

Принята к публикации 26.02.2021 г.

Одним из перспективных для биофотоники и медицины материалов, используемых для диагностики и таргетной терапии онкологических заболеваний, являются наночастицы сульфида серебра. Спектральные проявления молекулярных механизмов взаимодействия белковых структур с солями металлов в ходе бактериального синтеза этих наночастиц исследованы с помощью молекулярного моделирования методами теории функционала плотности. Особенностью получения наночастиц сульфида серебра методом биосинтеза с помощью бактерий *Bacillus subtilis* 168 является то, что единственным белком, участвующим в процессе синтеза и адсорбирующимся на поверхности частиц, является белок флагеллин. В качестве исследуемых объектов рассматривались соли — нитрат серебра и тиосульфат натрия, участвующие в процессе синтеза, а также нестандартная аминокислота метиллизин, входящая в состав флагеллина. Моделирование проводилось на основе расчета образующихся молекулярных структур и их ИК спектров при помощи программного комплекса Gaussian 09. В ходе анализа параметров образующихся водородных связей было обнаружено, что метиллизин образует достаточно устойчивые молекулярные комплексы с нитратом серебра и тиосульфатом натрия. Это говорит о существенной роли метиллизина в образовании биогенных наночастиц сульфида серебра и проясняет механизм его функционирования в составе флагеллина.

Ключевые слова: ИК спектры, наночастицы, биосинтез, сульфид серебра, флагеллин, метиллизин, молекулярное моделирование, водородные связи, теория функционала плотности.

DOI: 10.21883/OS.2021.06.50982.1k-21

Введение

Применение наночастиц для диагностики и таргетной терапии различных заболеваний в настоящее время является одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений в биофизике и медицине [1,2]. В частности, существенно возрос интерес к процессу синтеза биогенных наночастиц сульфидов металлов, поскольку эти полимерные композиционные наноматериалы обладают уникальными оптическими и электрическими свойствами, позволяющими их использовать в различных областях [3]: в биофизике и медицине — как биометки и точки фотолюминесценции для визуализации *in vivo* органов и тканей, а также как средство адресной доставки лекарственных препаратов, а в наноэлектронике, оптоэлектронике и энергетике — в качестве сенсоров, датчиков, фотопроводников и ИК детекторов. Одним из наиболее доступных и распространенных материалов среди наночастиц халькогенидов металлов является наноструктурированный моноклинный сульфид серебра Ag_2S . Малый диаметр этих полупроводниковых наночастиц позволяет их использовать в качестве квантовых точек [4,5], применяемых как для визуализации *in vivo* органов и тканей [5] при ранней диагностике онкологических заболеваний, так и для таргетной терапии и удержания лекарств в клетках [1].

Как правило, наночастицы сульфидов металлов получают химическими методами, однако эти методы высокочемические и экологически опасны. Кроме того, химически синтезированные наночастицы менее биосовместимы, что существенно ограничивает их применение в биологических и медицинских системах. В последнее время большое внимание уделяется созданию частиц с органической оболочкой, что вызвано необходимостью закрепления на поверхности ядра специфических групп (органических лигандов), предотвращающих агрегацию и рост частиц, их окисление и обеспечивающих получение стабильных изолированных наночастиц. В отличие от наночастиц, образуемых химическими методами, биогенные наночастицы, полученные в водных растворах соответствующих солей в присутствии различных типов микроорганизмов, характеризуются наличием на их поверхности белковых молекул, состав которых определяется бактериальной культурой. В этом отношении биологические методы получения наночастиц имеют ряд преимуществ: не требуют больших затрат энергии, дорогих и токсичных химических веществ, экологически безопасны, обеспечивают прочную органическую оболочку наночастиц и стабильные размеры около 10 nm. Таким образом, можно сказать, что наночастицы сульфида серебра, получаемые с помощью биосинтеза на основе различных бактериальных культур [6,7], обладают

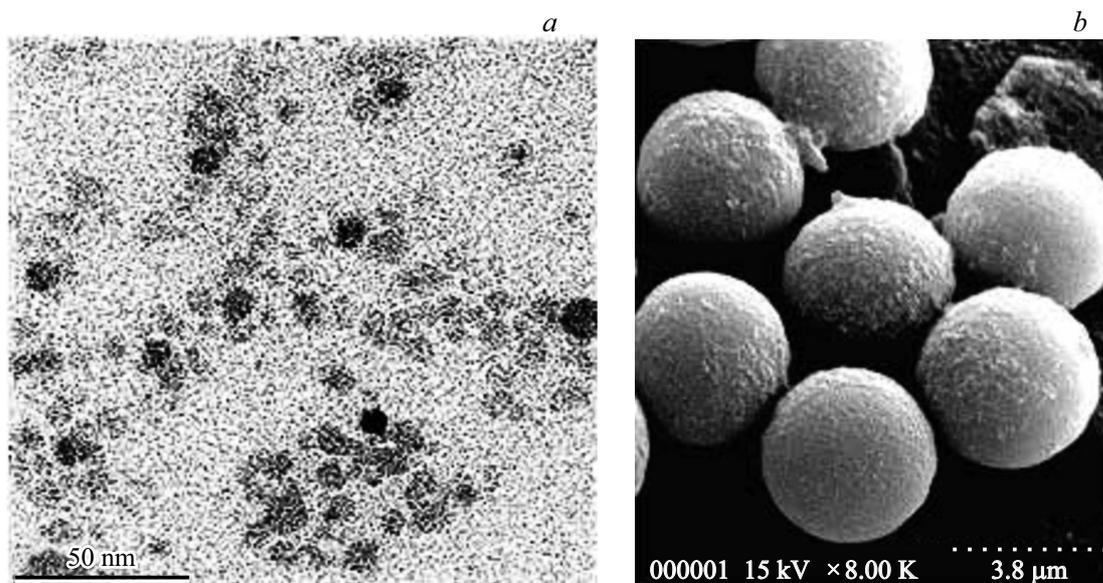


Рис. 1. Изображения наночастиц сульфида серебра $npAg_2S$, синтезированных с помощью *Bacillus subtilis* 16, полученные в [6] с помощью электронной микроскопии: (a) ПЭМ-изображение с масштабной меткой 50 nm; (b) изображения полистирольных микросфер, модифицированных $npAg_2S$, полученные на сканирующем электронном микроскопе.

высокой степенью биосовместимости за счет белковой оболочки, а малый размер позволяет использовать их в биофизике и биомедицине как флуоресцентные метки для визуализации биопроцессов *in vivo* и как средство удержания лекарственных препаратов в клетках.

Объекты исследования

В работе исследованы механизмы межмолекулярного взаимодействия белковых структур с солями рабочего раствора, используемого для получения наночастиц сульфида серебра, а именно — с водными растворами солей нитрата серебра $AgNO_3$ и тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$. В качестве исследуемого белка рассмотрен бактериальный белок флагеллин, поскольку, как показано в экспериментальном исследовании [7], при биосинтезе с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168 (сенная палочка) только этот белок сорбируется на поверхности наночастиц сульфида серебра Ag_2S и, таким образом, является одной из важнейших составляющих процесса бактериального синтеза. На рис. 1 продемонстрированы полученные с помощью электронной микроскопии изображения наночастиц сульфида серебра $npAg_2S$, синтезированных с помощью *Bacillus subtilis* 16 в работе [6]. Необходимо отметить, что в экспериментах по сравнительному анализу состава белковых оболочек наночастиц, полученных методами биосинтеза на основе грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168 и грамотрицательных бактерий *Shewanella oneidensis* MR-1 и *Escherichia coli* K12 [7], наблюдалось сильное различие состава белковых оболочек наночастиц. Как отмечается в [7], у наночастиц, синтезированных на

основе других бактерий, в составе оболочки флагеллина либо совсем не было, либо он присутствовал в числе многих белков оболочки, при этом размер оболочки был значительно меньше, чем при биосинтезе с помощью бактерий *Bacillus subtilis* 168 при размере наночастицы Ag_2S 8–10 nm во всех случаях. Таким образом, можно сделать вывод о существенной роли флагеллина в образовании белковой оболочки.

Флагеллин представляет собой белок, образующий нить жгутика бактерии [8], способный самоорганизовываться в полые цилиндрические структуры и являющийся лигандом для рецептора врожденной иммунной системы TLR5. Структура флагеллина с метилазой из состава *Bacillus subtilis* 168 из базы RCSB PDB [9] и полный состав аминокислот флагеллина, приведенный в [10], показаны на рис. 2, a. Необходимо отметить, что флагеллин у *Bacillus subtilis* 168, как показано в [9], присутствует вместе с метилазой, которая представляет собой специальный модифицирующий фермент, с помощью которого бактерии метят свою ДНК для сохранения собственного генома путем метилирования азотистых оснований ДНК. Благодаря метилированию в состав флагеллина у многих бактерий входит нестандартная аминокислота метиллизин $C_7H_{16}O_2N_2$ [8,10], которая, как и все нестандартные аминокислоты, является производной обычных аминокислот и включается в состав белков как во время их синтеза, так и в результате дополнительных ферментативных реакций.

Как отмечается в [8], синтез метиллизина происходит уже в составе молекулы флагеллина путем метилирования лизина $C_6H_{14}N_2O_2$, т.е. замещения водорода метильной группой $-CH_3$, при этом метилированные остатки лизина находятся на поверхности молекулы фла-

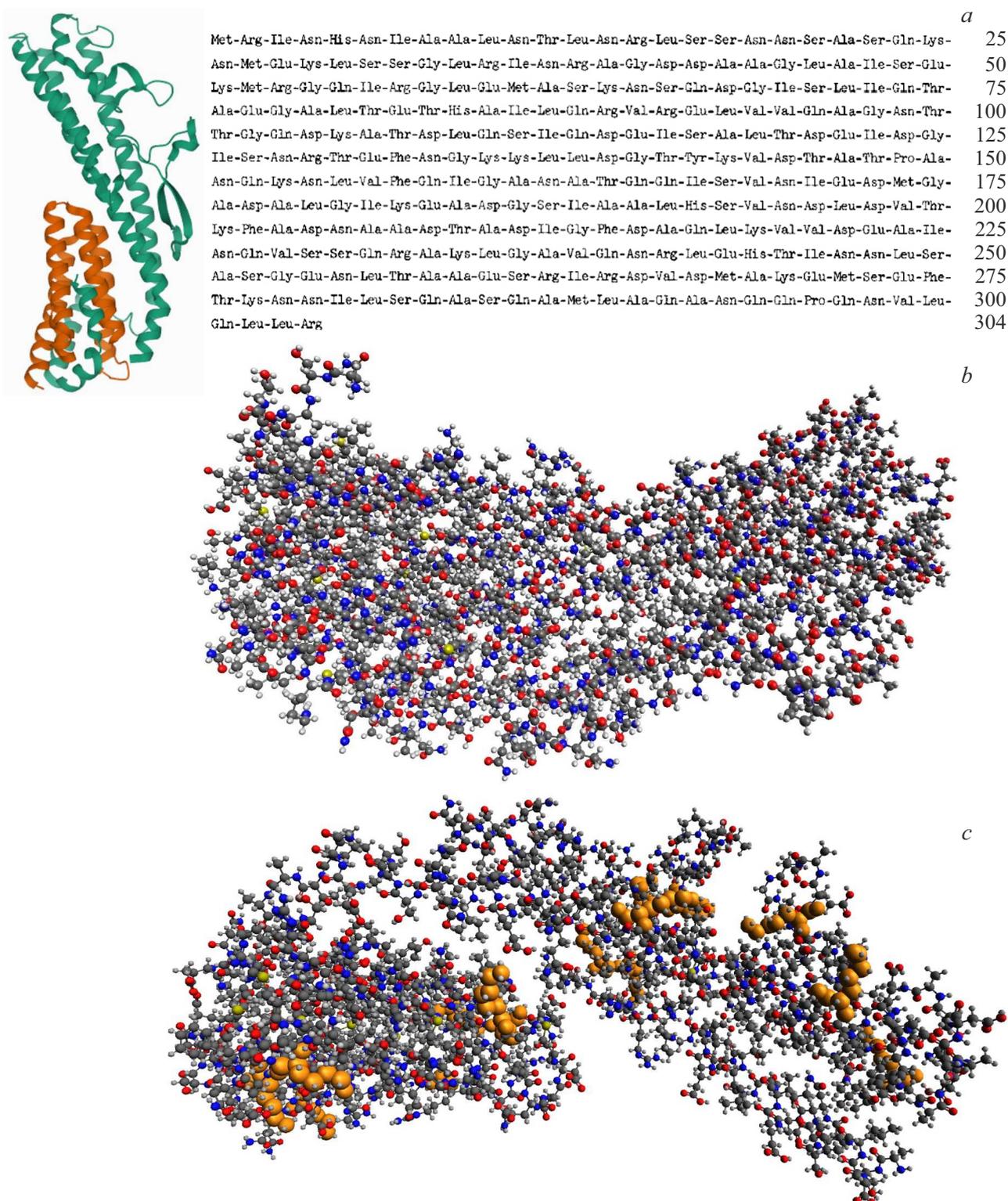


Рис. 2. Молекула флагеллина *Bacillus subtilis* 168: (a) структура флагеллина (зеленый) с метиллазой (оранжевый) [9] (слева) и полная последовательность аминокислот [10] (справа), (b) молекулярная структура, рассчитанная в Avogadro, где красным цветом отмечены атомы кислорода, синим — азота, темно-серым — углерода, серым — водорода; (c) рассчитанная молекулярная структура с выделенным желтым лизином.

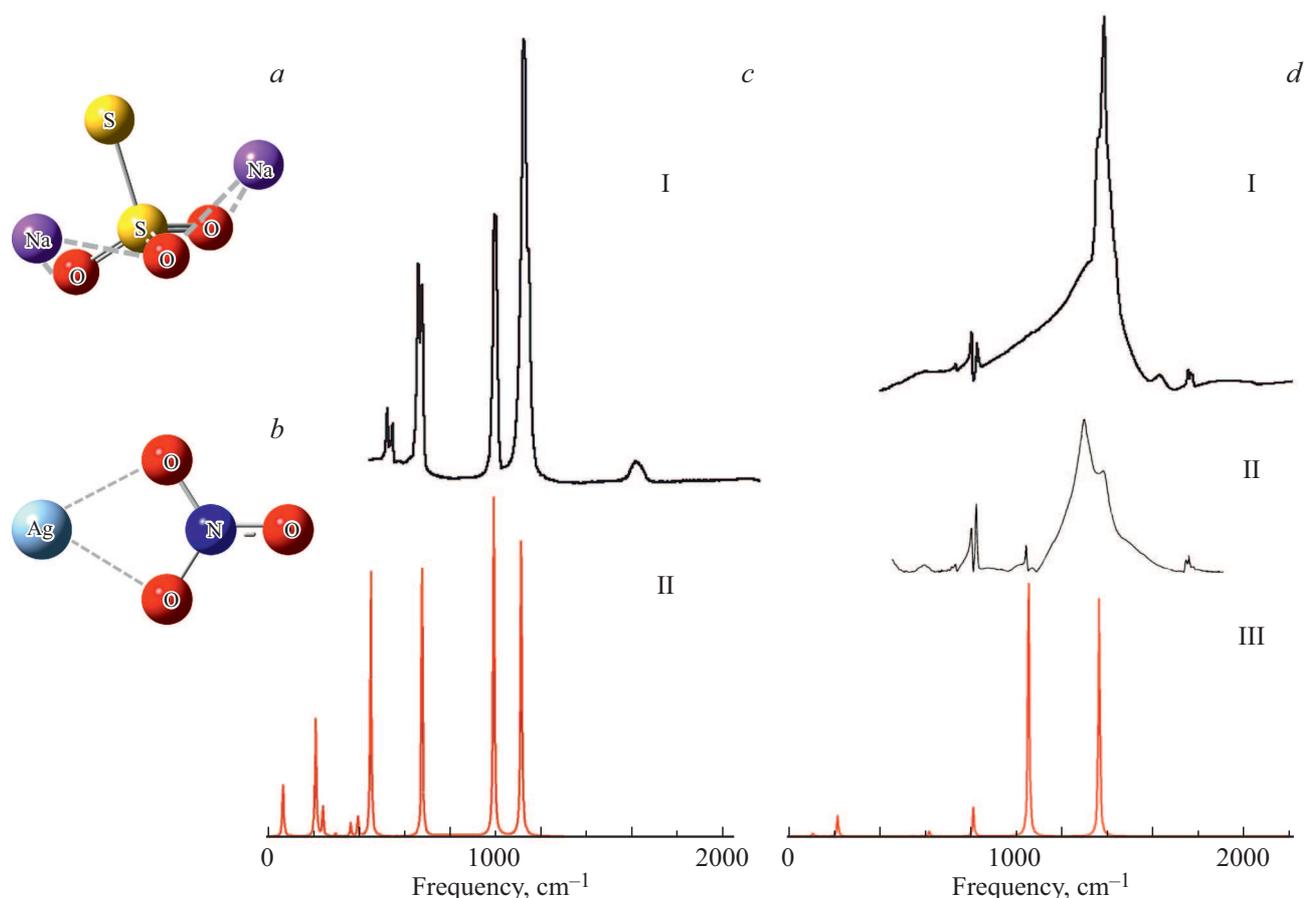


Рис. 3. Рассчитанные структуры (*a, b*) и ИК спектры (*c* (II), *d* (III)) молекул: (*a, c*) тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, (*b, d*) нитрата серебра AgNO_3 и экспериментальные ИК спектры тиосульфата натрия (*c* (I)) и нитрата серебра (*d* (I, II)), взятые из международной базы данных химических соединений и смесей PubChem (*c* (I) [17], *d* (I) [18]) и работы [19] (*d* (II)).

геллина. Биологический смысл образования лизиновых производных может заключаться в том, что молекула после метилирования становится более устойчивой к воздействию внешних факторов [8].

Кроме того, метиллизин присутствует в мышечном белке миозине, участвующем в работе сократительной системы [11]. Таким образом, можно сделать предположение, что метиллизин играет важную роль в образовании наночастиц, способствуя „скручивающему“ и „обволакивающему“ эффектам, чем обеспечивает более прочную и объемную белковую оболочку образующихся наночастиц, что наблюдалось экспериментально [7]. Однако данное предположение необходимо подтвердить на основе исследования межмолекулярного взаимодействия метиллизина с компонентами рабочего раствора.

Одним из методов оценки степени межмолекулярного взаимодействия, определяющего механизмы образования наночастиц, является исследование возможности комплексообразования метиллизина с солями тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и нитрата серебра AgNO_3 на основе расчетов молекулярных структур и их ИК спектров с последующим анализом параметров образующихся в смеси водородных связей.

Ранее нами проводились подобные численные оценки для анализа степени межмолекулярного взаимодействия модифицированных наноалмазов с биомолекулами и лекарственными препаратами [12], где на основе рассмотрения фрагментов крупных молекулярных структур можно сделать вывод о степени комплексообразования. Хорошее совпадение с экспериментальными результатами дает возможность распространить данную методику и на другие задачи.

Моделирование структур и расчет спектров молекул и их комплексов осуществлялись на основе анализа межмолекулярного взаимодействия методами теории функционала плотности (DFT) [13] с использованием функционала B3LYP [14], в котором применяется представление молекулярных орбиталей в виде линейной комбинации линейно независимых функций, называемых базисными. В качестве базисных функций в данной работе использовались гауссовы тип функций в валентно-расщепленном базисном наборе. Такие базисы отличаются повышенной точностью, что достигается представлением валентных орбиталей двумя наборами функций. Валентно-расщепленные базисы обозначаются $M-NPG$, где M обозначает количество простых гауссовых функ-

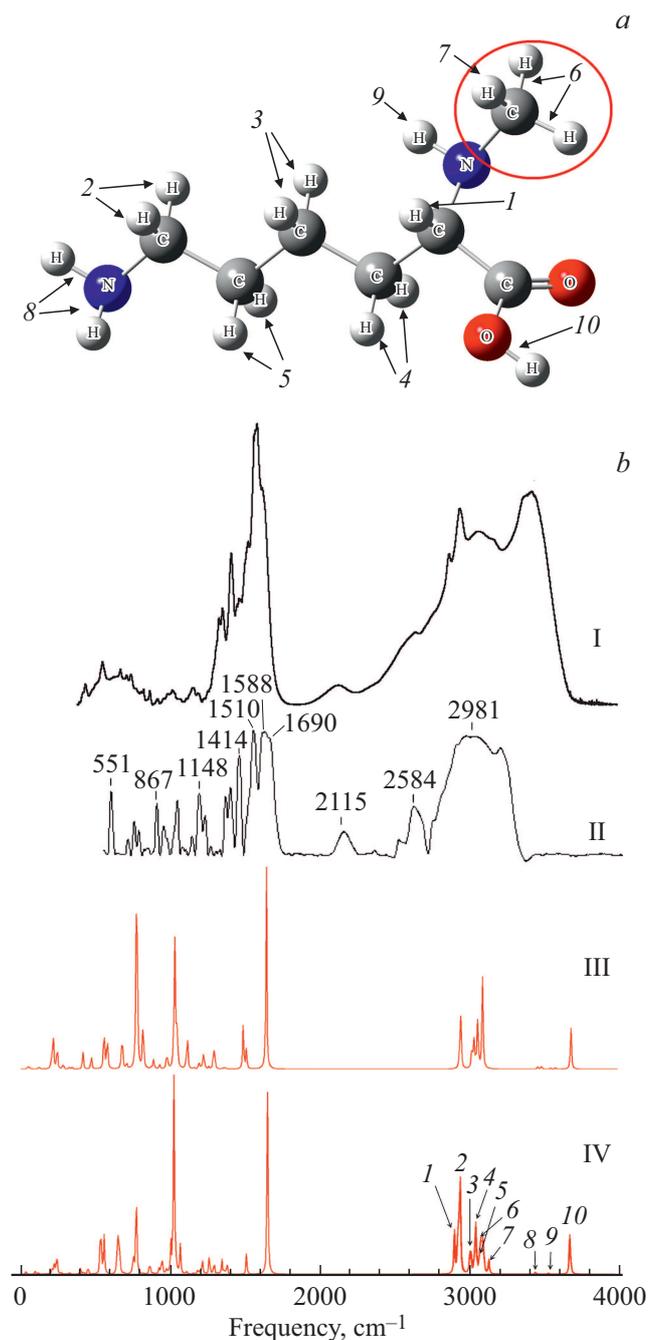


Рис. 4. Рассчитанные структура (a) и ИК спектры (b (III, IV)) молекул: (a, b (IV)) метиллизина $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$ с обозначенными валентными связями (1–10), соответствующими им спектральными полосами и выделенной метильной группой $-\text{CH}_3$ и экспериментальные ИК спектры лизина $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (b (I, II)), взятые из международной базы данных химических соединений и смесей PubChem [20] (b (I)) и работы [21] (b (II)).

ций, входящих в состав базисной функции атомной орбитали, N и P показывают, что каждая валентная орбиталь состоит из двух базисных функций, первая из которых представляет собой линейную комбинацию N простых

гауссовых функций, а вторая — P простых гауссовых функций [14]. В данной работе процедуры оптимизации геометрии молекулярных структур и расчет ИК спектров производились с использованием базисного набора 6-31G(d), в котором атомные орбитали электронов внутренней оболочки аппроксимируются шестью гауссовыми функциями ($M = 6$), а орбитали валентной оболочки описываются соответственно тремя ($N = 3$) и одной ($P = 1$) гауссовыми функциями с добавлением поляризационных компонент. Расчет структур, ИК спектров и молекулярных комплексов нитрата серебра AgNO_3 проводился с использованием валентно-расщепленного базиса с эффективными потенциалами остова (effective core potentials — ECP) LANL2DZ [15], который используется в квантовой химии при изучении соединений или кластеров, содержащих тяжелые элементы.

Процедуры молекулярного моделирования были проведены с использованием программного комплекса Gaussian 09 [16] и визуализатора молекулярных структур Avogadro, широко применяемых для решения задач молекулярного моделирования в различных сферах вычислительной физики и химии.

Для учета ангармонизма во взаимодействии и соответственно снижения степени расхождения между экспериментальными и вычисленными данными нами были использованы масштабирующие множители для всех рассчитанных частот: 0.8742 (диапазон $0-1000 \text{ cm}^{-1}$), 0.89 (диапазон $1000-2000 \text{ cm}^{-1}$), 0.995 (диапазон свыше 2000 cm^{-1}).

Результаты и обсуждение

В ходе вычислений были рассчитаны структура и ИК спектры молекул метиллизина, лизина, тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и нитрата серебра AgNO_3 , а также молекулярных комплексов метиллизина с каждой солью и с обеими солями одновременно.

Полная структура молекулы флагеллина из состава *Bacillus subtilis* 168 с обозначенным в его структуре лизином показана на рис. 2. Пространственную структуру флагеллина с метилазой [9] и состав аминокислот [10] можно видеть на рис. 2, a, а рассчитанная и оптимизированная нами в программе Avogadro молекулярная структура флагеллина с отмеченным лизином представлена на рис. 2, b.

На рис. 3 и 4 представлены рассчитанные структуры и ИК спектры, а также экспериментальные ИК спектры отдельных составляющих исследуемой молекулярной системы. В ИК спектрах тиосульфата натрия (рис. 3, c) и нитрата серебра (рис. 3, d) хорошо видно соответствие спектральных полос экспериментальных и рассчитанных спектров в области средних частот: для тиосульфата натрия это область $500-1200 \text{ cm}^{-1}$, а для нитрата серебра — $800-1600 \text{ cm}^{-1}$.

Поскольку целью исследования является анализ параметров водородных связей как одной из основных

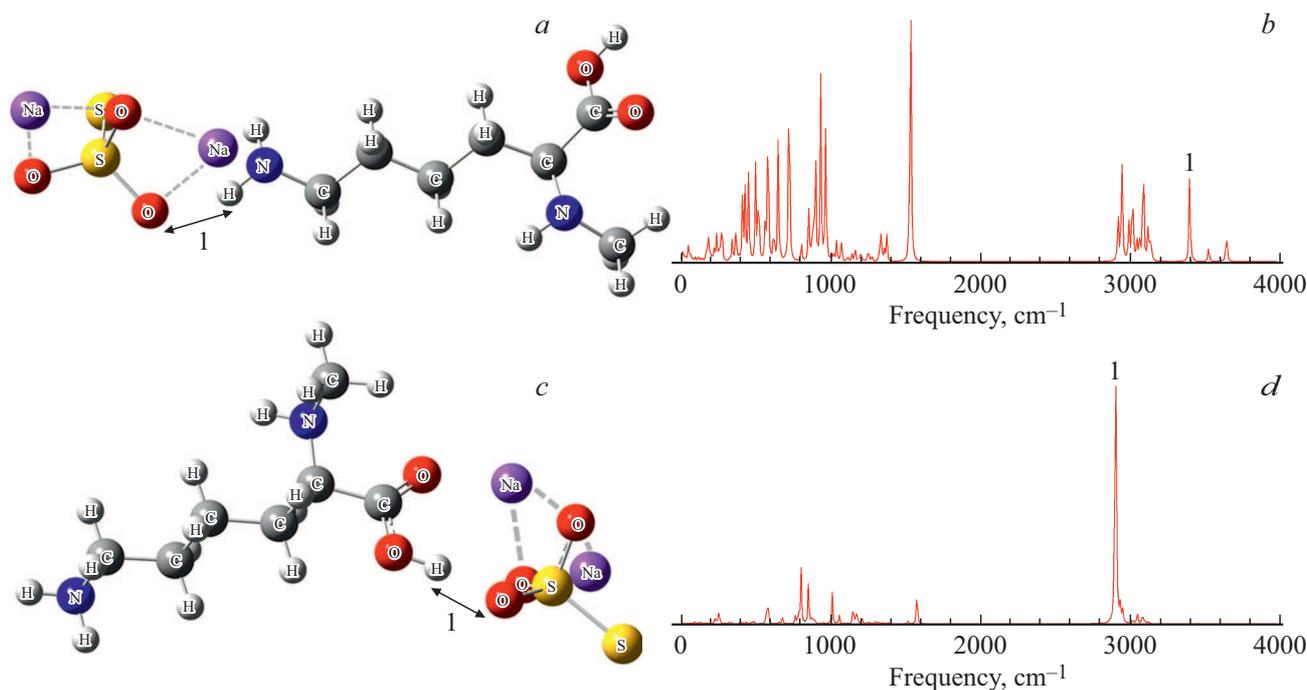


Рис. 5. Рассчитанные структуры (*a, c*) и ИК спектры (*b, d*) для двух различных вариантов (1 — *a, b*), (2 — *c, d*) комплексообразования тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ с метиллизином с обозначенными $\text{O} \cdots \text{H}$ связями (1).

характеристик степени межмолекулярного взаимодействия и комплексообразования в многокомпонентных смесях [22,23], то основное внимание будем обращать на область ИК спектра от 2000 cm^{-1} и выше, где в спектре метиллизина хорошо заметны полосы (1–10 на рис. 4, *b* (IV)), соответствующие валентным колебаниям связей C–H (1–7), N–H (8, 9) и O–H (10). Частоты валентных колебаний связей составляют: $\nu_1 = 2897 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_2 = 2937 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_3 = 3000 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_4 = 3040 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_5 = 3072 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_6 = 3080 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_7 = 3128 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_8 = 3518 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_9 = 3526 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{10} = 3669 \text{ cm}^{-1}$. Длина связей $R_{\text{C-H}}$ во всех случаях составляет 1.09 \AA , длина связи $R_{\text{O-H}} = 0.97 \text{ \AA}$, а длина связей $R_{\text{N-H}} = 1.01 \text{ \AA}$. Полосы 1–5 соответствуют валентным колебаниям внутренних связей C–H, не участвующих в процессе комплексообразования, а полосы 6 и 7 соответствуют антисимметричным и симметричным колебаниям трех связей C–H метильной группы $-\text{CH}_3$, появляющейся у лизина $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ в результате метилирования (на рис. 4, *a* эта группа выделена). Как видно из сравнения рассчитанных ИК спектров лизина и метиллизина (рис. 4, *b* (III, IV)), присоединение метильной группы не вносит существенных изменений в расположение спектральных полос в интересующей нас области спектра, где появляются только пики 6 и 7. Наибольшее участие в процессе комплексообразования принимают связи N–H (пики 8, 9) и O–H (пик 10), смещение спектральных полос которых и будет отслеживаться в ходе последующего моделирования.

Структуры и ИК спектры образующихся молекулярных комплексов показаны на рис. 5–7.

Сила образовавшихся водородных связей оценивалась в соответствии с классификацией, приведенной в [24], где сильными водородными связями считаются связи с энергией $14.34\text{--}28.65 \text{ kJ/mol}$ и длиной водородного мостика $2.2\text{--}2.5 \text{ \AA}$, энергия средних связей лежит в диапазоне $3.82\text{--}14.43 \text{ kJ/mol}$, а длина водородного мостика $2.5\text{--}3.2 \text{ \AA}$, у слабых связей энергия менее 2.87 kJ/mol , а длина водородного мостика $3.2\text{--}4.0 \text{ \AA}$.

В табл. 1–3 мы приводим следующие параметры связей: тип, R , Å — исходная длина H-связи, R_b , Å — длина водородного мостика N–H \cdots O или O–H \cdots O (в зависимости от типа связи), I_{IR} , km/mol — интенсивность пика спектральной линии, $\Delta\nu$, cm^{-1} — сдвиг частоты валентных колебаний H-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул, необходимая для расчета энергии связи ΔH , kJ/mol , по эмпирической формуле Иогансена [22]:

$$-\Delta H = 0.3\sqrt{\Delta\nu - 40}. \quad (1)$$

Были рассчитаны различные возможности комплексообразования солей с метиллизином. Как показали расчеты, и для тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, и для нитрата серебра AgNO_3 существуют несколько различных вариантов присоединения к метиллизину.

Рассчитанные структуры и ИК спектры для некоторых вариантов показаны на рис. 5 и 6, вычисленные параметры водородных связей для всех рассмотренных

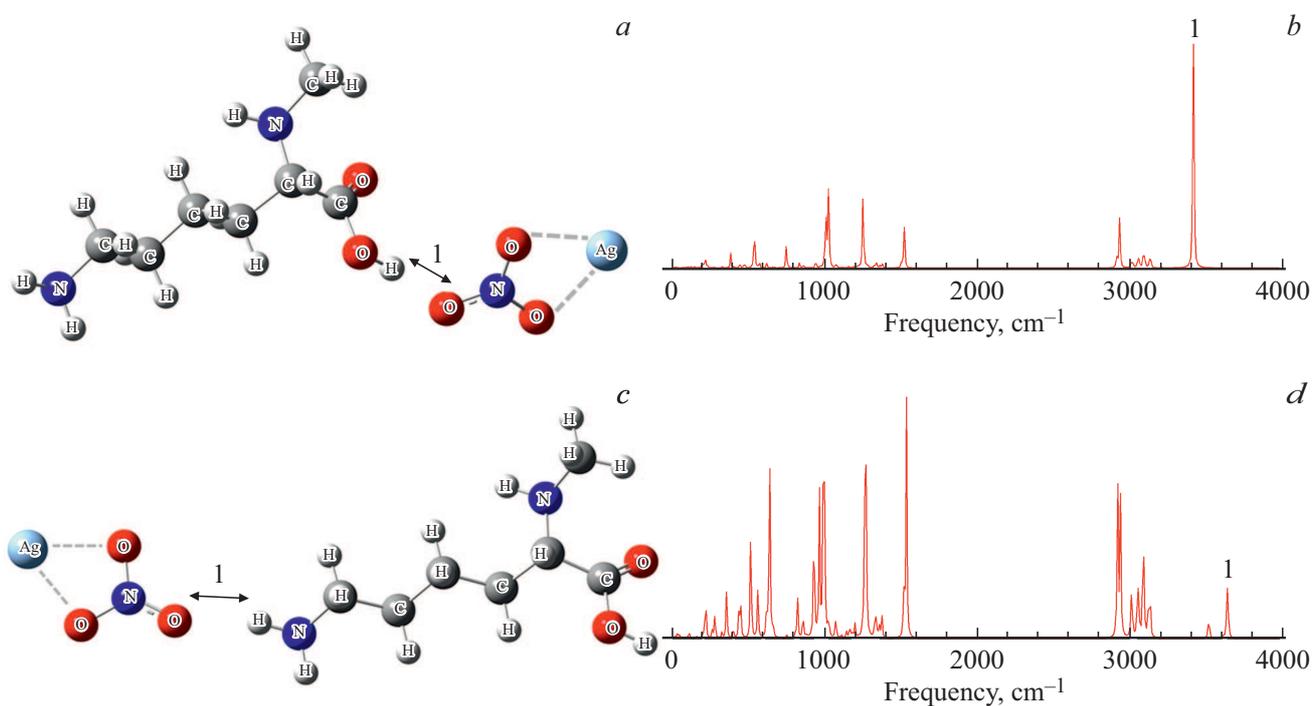


Рис. 6. Рассчитанные структуры (a, c) и ИК спектры (b, d) для двух различных вариантов (1 — a, b), (2 — c, d) комплексообразования нитрата серебра AgNO_3 с метиллизинном с обозначенными $\text{O} \cdots \text{H}$ связями (1).

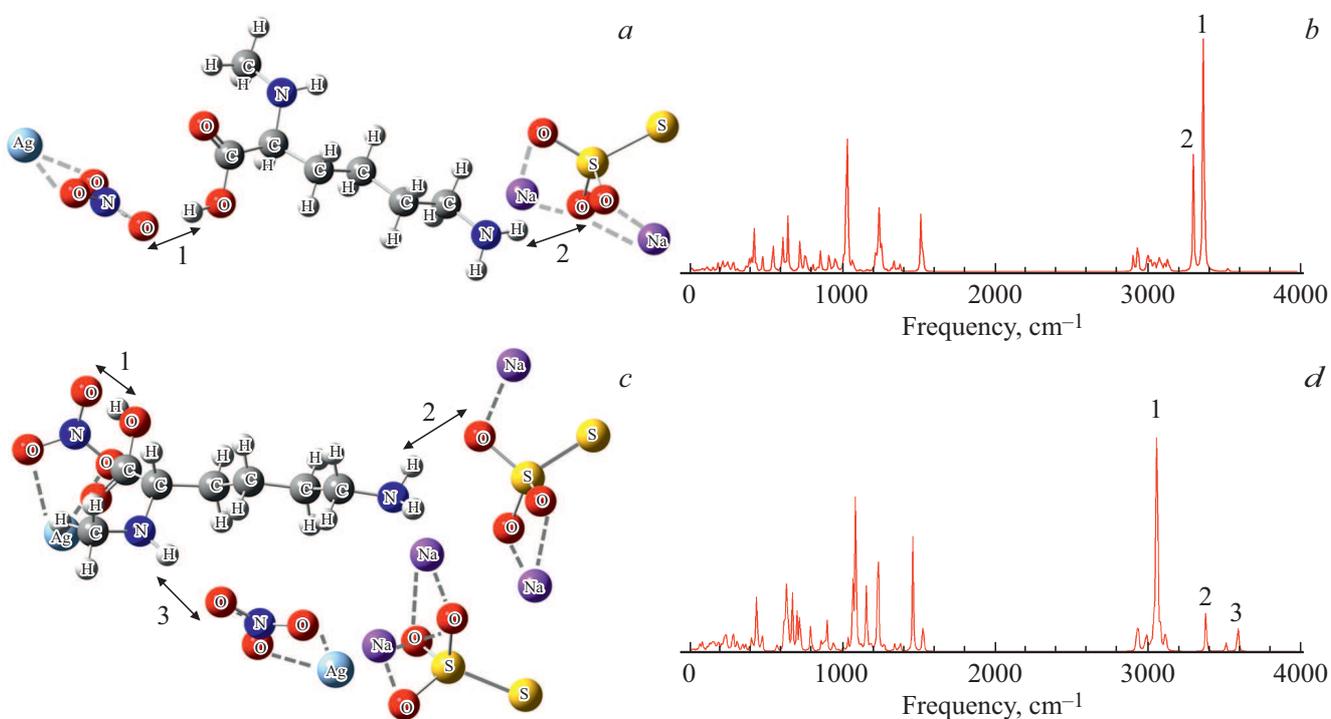


Рис. 7. Рассчитанные структуры (a, c) и ИК спектры (b, d) для молекулярного комплекса метиллизина с нитратом серебра AgNO_3 и тиосульфатом натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ с одиночными молекулами солей металлов (a, b) и с двумя молекулами каждой из солей металлов (c, d) с обозначенными H -связями (1–3).

Таблица 1. Рассчитанные параметры водородных связей для трех вариантов молекулярного комплекса тиосульфат натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ –метиллизин

Номер варианта/ номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R , Å	Длина водородного мостика R_b , Å	Частота ν , cm^{-1}	Частотный сдвиг $\Delta\nu$, cm^{-1}	Энергия связи $-\Delta H$, kcal/mol	Интенсивность I_{IR} , km/mol
1/1	N–H...O	1.01	2.83	3388	138	2.96	228
2/1	O–H...O	0.99	2.63	2896	773	8.12	3956
3/1	N–H...O	1.02	3.01	3451	67	1.55	118

Таблица 2. Рассчитанные параметры водородных связей для трех вариантов молекулярного комплекса нитрат серебра AgNO_3 –метиллизин

Номер варианта/ номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R , Å	Длина водородного мостика R_b , Å	Частота ν , cm^{-1}	Частотный сдвиг $\Delta\nu$, cm^{-1}	Энергия связи $-\Delta H$, kcal/mol	Интенсивность I_{IR} , km/mol
1/1	O–H...O	0.99	2.79	3406	263	4.47	1312
2/1	N–H...O	1.01	3.15	3630	104	2.4	49
3/1	N–H...O	1.02	3.16	3603	85	2.01	49

Таблица 3. Рассчитанные параметры водородных связей для двух вариантов молекулярного комплекса нитрат серебра AgNO_3 –метиллизин–тиосульфат натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Номер варианта/ номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R , Å	Длина водородного мостика R_b , Å	Частота ν , cm^{-1}	Частотный сдвиг $\Delta\nu$, cm^{-1}	Энергия связи $-\Delta H$, kcal/mol	Интенсивность I_{IR} , km/mol
1/1	O–4H...O	0.99	2.77	3353	316	4.98	1265
1/2	N–H...O	1.01	3.03	3290	228	4.11	442
2/1	O–H...O	0.99	2.70	3057	612	7.17	1462
2/2	N–H...O	1.01	2.94	3380	146	3.08	172
2/3	N–H...O	1.02	3.11	3594	76	1.79	138

вариантов приведены в табл. 1 и 2. Видно, что не все варианты являются равноценными. Для тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ были рассмотрены три варианта комплексообразования, в двух из которых образуются водородные связи средней силы (варианты 1 и 2).

Структура и ИК спектры для этих двух вариантов показаны на рис. 5, а параметры водородных связей указаны в табл. 1. В третьем варианте образуется слабая водородная связь (параметры связи этого варианта также указаны в табл. 1). Наиболее сильной является водородная связь O–H...O (вариант 2). Частота валентных колебаний связи O–H в этом случае составляет $\nu = 2896 \text{ cm}^{-1}$ (рис. 5, *c, d*, вариант 2).

При образовании этой водородной связи наблюдается частотный сдвиг в длинноволновую область $\Delta\nu = 773 \text{ cm}^{-1}$, при этом длина образовавшегося водородного мостика составляет 2.63 Å, интен-

сивность образовавшегося пика достаточно высока: $I_{\text{IR}} = 3956 \text{ km/mol}$, а энергия данной водородной связи $-\Delta H = 8.12 \text{ kcal/mol}$, что соответствует средней водородной связи, приближающейся к сильной, и говорит о стабильности образующейся молекулярной структуры.

При анализе водородных связей в комплексообразовании молекул метиллизина с нитратом серебра AgNO_3 также были рассмотрены три варианта присоединения (рис. 6, табл. 2). Необходимо отметить, что наиболее сильное взаимодействие наблюдается в случае присоединения через группу O–H (вариант 1), как и для тиосульфата натрия. При образовании водородной связи O–H...O наблюдается частотный сдвиг в длинноволновую область $\Delta\nu = 263 \text{ cm}^{-1}$, при этом интенсивность пика $I_{\text{IR}} = 1312 \text{ km/mol}$, а энергия образовавшейся водородной связи $-\Delta H = 4.37 \text{ kcal/mol}$, что соответствует средней водородной связи.

Поскольку в экспериментальных работах [6,7] по биосинтезу наночастиц сульфида серебра, синтезированных с помощью *Bacillus subtilis* 16, в качестве рабочего раствора использовалась смесь солей нитрата серебра и тиосульфата натрия (как отмечается в [7], „биосинтез наночастиц Ag_2S проводили в 1 мМ водном растворе солей AgNO_3 и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в присутствии клеток бактерий в аэробных условиях“), то в ходе исследования нами была рассмотрена возможность образования молекулярного комплекса в трехкомпонентной смеси метиллизина с обеими солями одновременно.

На рис. 7, *a, b* показан один из примеров такого комплексообразования: структура и ИК спектр молекулярного комплекса нитрат серебра AgNO_3 –метиллизин–тиосульфат натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Видно, что с каждой солью метиллизин образует водородную связь средней силы. Параметры связей указаны в табл. 3. Видно, что и в том, и в другом случаях возникают водородные связи средней силы: наблюдаются частотные сдвиги $\Delta\nu_1 = 316 \text{ cm}^{-1}$ и $\Delta\nu_2 = 228 \text{ cm}^{-1}$, энергия водородных связей составляет $-\Delta H = 4.98 \text{ kcal/mol}$ и $-\Delta H = 4.11 \text{ kcal/mol}$ соответственно.

Также были рассчитаны структуры, ИК спектры и параметры водородных связей четырехкомпонентных смесей, где к метиллизину присоединяется две молекулы AgNO_3 и одна $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Структура и ИК спектр такого комплекса показаны на рис. 7, *c, d*. Как и в предыдущем примере, наиболее сильной является связь $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ — частотный сдвиг достаточно большой: $\Delta\nu_1 = 612 \text{ cm}^{-1}$, а энергия водородной связи $-\Delta H = 7.17 \text{ kcal/mol}$ (табл. 3). Связи $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ являются средними, близкими к слабым и слабыми.

Данные примеры являются одними из нескольких возможных подобных трех-, четырех- и пятикомпонентных молекулярных комплексов, где сила образующихся водородных связей, как правило, является средней.

Выводы

На основе результатов молекулярного моделирования различных вариантов комплексообразования метиллизина с солями нитрата серебра AgNO_3 и тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и последующего анализа параметров образующихся связей была установлена возможность образования нескольких водородных связей средней силы с энергиями от 2.96 до 8.12 kcal/mol как при двойном, так и при тройном комплексообразовании. Кроме того, необходимо отметить особое влияние процесса метилизации лизина, способствующее образованию более прочной органической оболочки синтезируемых наночастиц.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что метиллизин образует достаточно устойчивые молекулярные комплексы с тиосульфатом натрия и нитратом серебра, что дает возможность говорить о его существенном вкладе в процесс образования наночастиц

сульфида серебра методом биосинтеза с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168. Более прочная и объемная органическая оболочка наночастиц, получаемая в результате синтеза с помощью *Bacillus subtilis* 168, практически одинаковые размеры получаемых наночастиц (около 10 nm) свидетельствуют о том, что синтез на основе именно этих бактерий является одним из перспективных методов бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра. Также необходимо отметить особую роль метиллизина при межмолекулярном взаимодействии в составе флагеллина, что данное исследование отчасти подтверждает.

Благодарности

Авторы работы выражают благодарность главному научному сотруднику лаборатории белковой инженерии ФГБУ „Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра „Курчатовский институт““ Т.А. Воейковой за предложение интересной и перспективной задачи, имеющей большое практическое значение для биофизики.

Финансирование работы

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-33-90250/20.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Деев С.М., Лебеденко Е.Н. // Молекулярная биология. 2017. Т. 51. № 6. С. 907. doi 10.7868/S0026898417060040
- [2] Бражник К.И., Барышникова М.А., Соколова З.А., Набиев И.Р., Суханова А.В. // Российский биотерапевтический журн. 2013. Т. 12. № 3. С. 12.
- [3] Dolez P.I. Nanomaterials. Definition, Classification and Application in Nanoengineering: Global Approaches to Health and Safety Issues. Amsterdam: Elsevier, 2015. P. 3.
- [4] Bouccara S., Sitbon G., Fragola A., Lorette V., Lequeny N., Pons T. // Current Opinion in Biotechnology. 2015. V. 34. P. 65. doi 10.1016/j.copbio.2014.11.018
- [5] Билан Р.С., Бражник К.И., Шамс П., Бати Д., Набиев И.Р., Суханова А.В. // Российский биотерапевтический журн. 2014. Т. 14. № 4. С. 11.
- [6] Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Кедик С.А., Грицкова И.А., Гусев С.А., Ретивов В.М., Кожухова Е.И., Дебабов В.Г. // Тонкие химические технологии. 2019. Т. 14. № 3. С. 50. doi 10.32362/2410-6593-2019-14-3-50-59
- [7] Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Булушова Н.В., Вейко В.П., Исмагулова Т.Т., Лупанова Т.Н., Шайтан К.В., Дебабов В.Г. // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 2017. Т. 35. № 4. С. 151. doi 10.18821/0208-0613-2017-35-4-151–156

- [8] *Метлина А.И.* //Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 229.
- [9] *RCSB Protein Data Bank.* [Электронный ресурс] Режим доступа:
<https://www.rcsb.org/3d-view/6GOW>
doi 10.2210/pdb6GOW/pdb
- [10] *Delange R.J., Chang J.Y., Shaper J.H., Glaser A.N.* // J. Biological Chemistry. 1976. V. 251. N 3. P. 705.
- [11] *Leninger A.L.* Principles of Biochemistry. Published by Worth Publishers, Inc. 1982; *Ленинджер А.* Основы биохимии: в 3-х т. Т. 1. Пер. с англ. М.: Мир, 1985. 367 с.
- [12] *Plastun I.L., Bokarev A.N., Zakharov A.A., Naumov A.A.* // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2020. V. 28. N 3. P.1 83. doi 10.1080/1536383X.2019.1686618
- [13] *Kohn W.* // Rev. Mod. Phys. 1999. V. 71. N 5. P. 1253; *Кон В.* // Успехи физ. наук. 2002. Т. 172. № 3. С. 336. doi 10.1103/RevModPhys.71.1253
- [14] *Becke A.D.* // J. Chem. Phys. 1993. V. 98. N 7. P. 5648. doi 10.1063/1.464913
- [15] *Frisch M.J., Trucks G.W., Cheeseman J.R., Scalmani G., Caricato M., Hratchian H.P., Li X., Barone V., Bloino J., Zheng G. et al.* Gaussian 09, Revision A.02. Wallingford CT: Gaussian Inc., 2009.
- [16] *Chiodo S., Russo N., Sicilia E.* // J. Chem. Phys. 2006. V. 125. N 10. P. 104107. doi 10.1063/1.2345197
- [17] *Электронный ресурс.* Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/7ROZTVrsbdM>
- [18] *Электронный ресурс.* Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/8u9s5tkSShZ>
- [19] *Rogachev A.A., Yarmolenko M.A., Rogachou A.V., Tapalski D.V., Liu X., Gorbachev D.L.* // RSC Advances. 2013. V. 3. P. 11226. doi 10.1039/c3ra23284k
- [20] *Электронный ресурс.* Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/7kr7mSoNW0L>
- [21] *Carneiro J., Döll-Boscardin P.M., Fiorin B.C., Nadal J.M., Farago P.V., de Paula J.P.* // Brazilian J. Pharmaceutical Sciences. 2016. V. 52. N 4. P. 645. doi 10.1590/S1984-82502016000400008
- [22] *Бабков Л.М., Пучковская Г.А., Макаренко С.П., Гаврилко Т.А.* ИК спектроскопия молекулярных кристаллов с водородными связями. Киев: Наукова думка, 1989. 160 с.
- [23] *Jeffrey G.A.* An Introduction to Hydrogen Bonding. NY: Oxford University press, 1997. 303 p.
- [24] *Стид Дж.В., Этвуд Дж.Л.* Супрамолекулярная химия. Т. 1. М.: Академкнига, 2007. 479 с.