

Etude *ab initio* du site actif des métallothionéines

M.Enescu, J.-Ph. Renault, S. Pommeret, J.-C. Mialocq, S. Pin

Programme Toxicologie Nucléaire

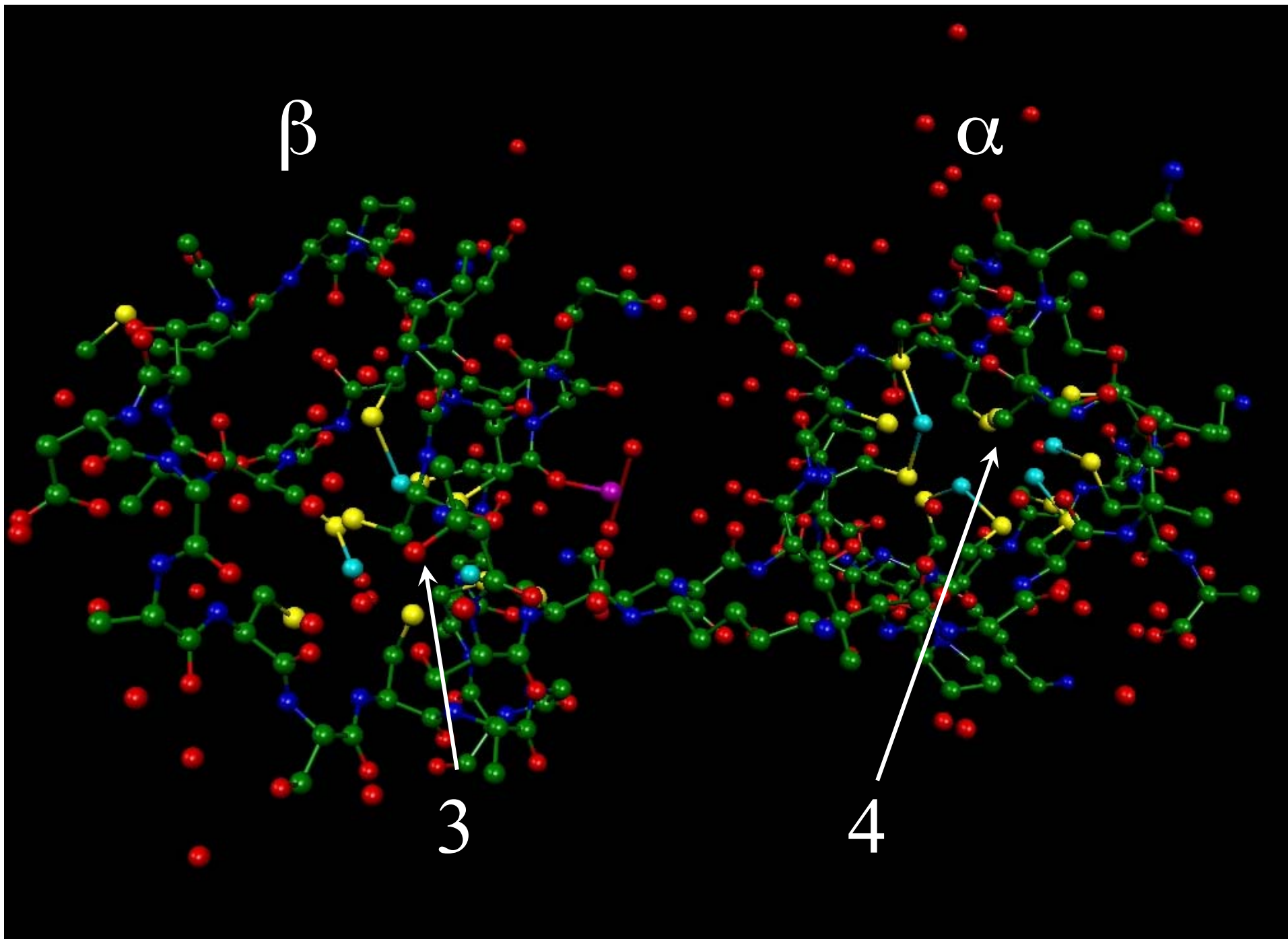
CEA/Saclay, Service de Chimie Moléculaire
CNRS URA 331
Laboratoire de Radiolyse

Les métallothionéines

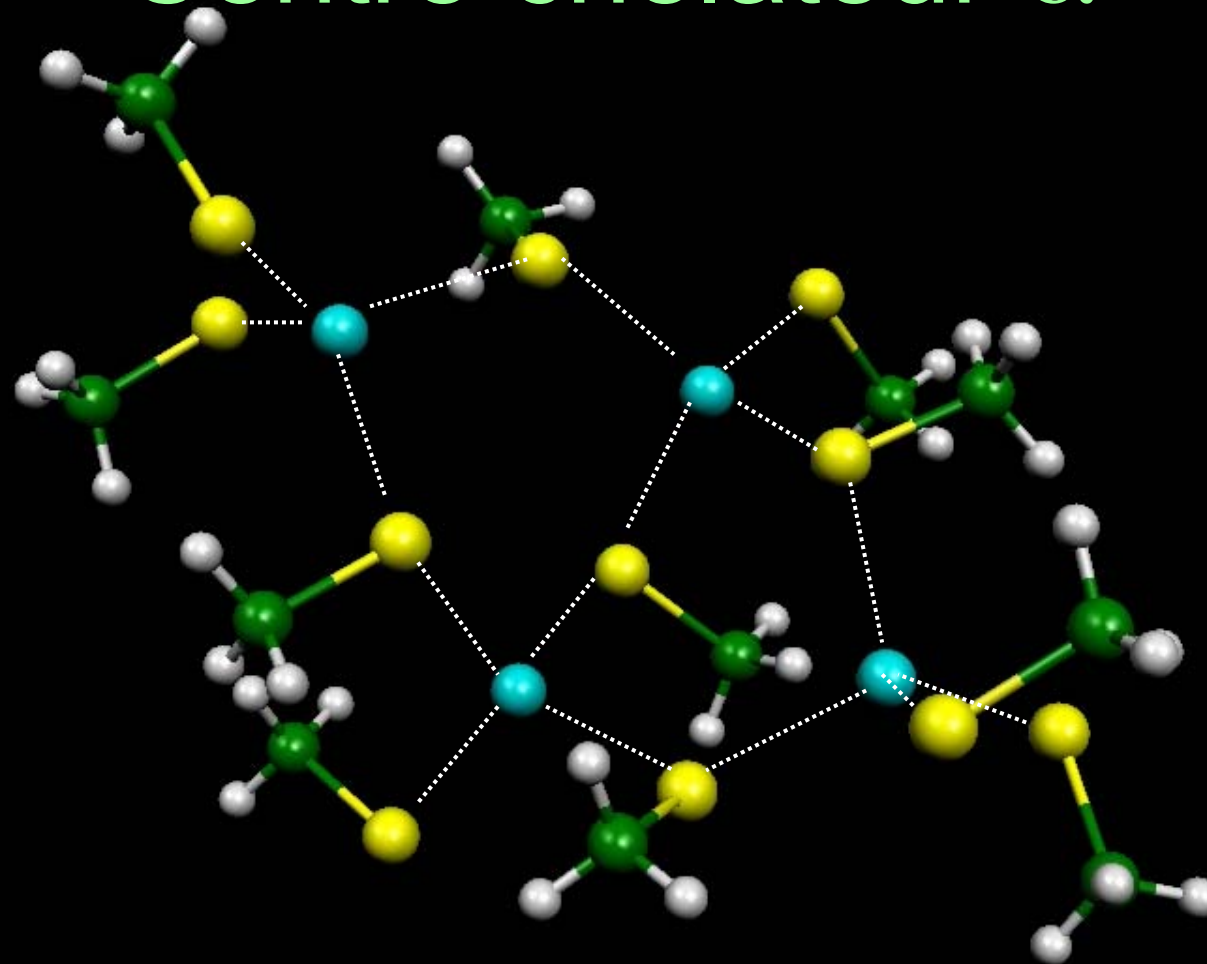
Fonction de complexation des métaux

- pour le métabolisme : métaux essentiels (Zn, Cu)
- pour la bioaccumulation : métaux lourds (Cd, Hg)

→ Choix des MeT comme modèle protéique de détoxification du Cd



Centre chélateur α



Objectifs

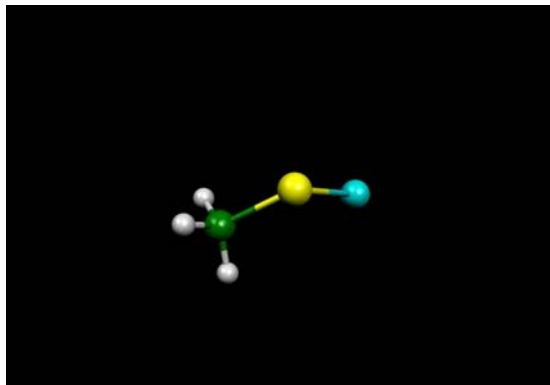
- mécanisme de complexation et stabilité structurale
- effets des processus d'oxydo-réduction et de protonation-déprotonation
- interaction avec des radicaux libres

Choix de la méthode de calcul

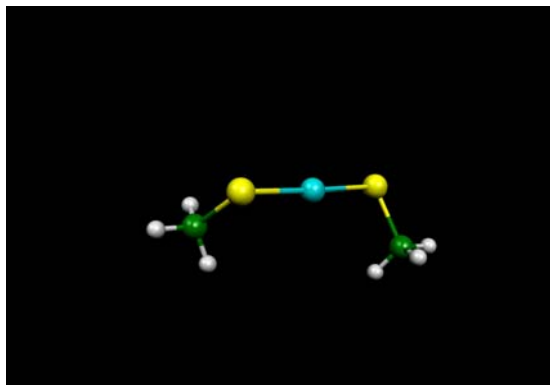
- Niveau d'approximation : RHF-MP2
- Electrons de cœur : ECP (Effective Core Potentials Hay-Wadt)
- Electrons de valence : DZ (Double-Zeta) avec des fonctions de polarisation

| D istance | Exp. | R H F | R H F-M P 2 | R H F-M P 2 | R H F-M P 2 |
|----------------------|------|------------------|-------------|-------------|------------------|
| C d □ X | | H W + | H W + | H W + | H W + |
| (≈) | | C d (+ 3 f) | X (+ 1 d) | C d (+ 1 f) | C d (+ 3 f) |
| | | X (+ 3 d ,+ 1 f) | | X (+ 1 d) | X (+ 3 d ,+ 1 f) |
| C d C l ₂ | 2.24 | 2.28 | 2.29 | 2.23 | 2.24 |
| C d I ₂ | 2.56 | 2.62 | 2.62 | 2.57 | 2.56 |

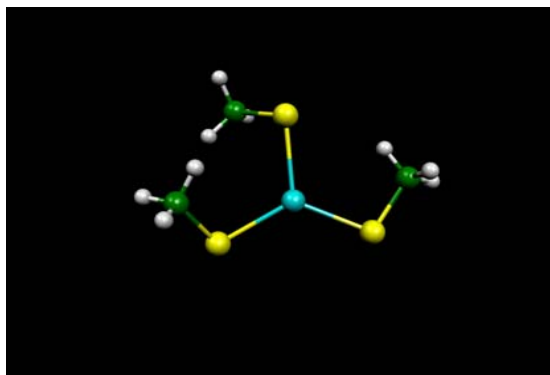
Systemes étudiés



charge Cd: +1.38
liaison: 33% Cd
 $d(\text{Cd-S}) = 2.32 \text{ \AA}$



charge Cd: +1.34
liaison: 28% Cd
 $d(\text{Cd-S}) = 2.30 \text{ \AA}$



charge Cd: +1.44
liaison: 12% Cd
 $d(\text{Cd-S}) = 2.46 \text{ \AA}$

Analyse des résultats :

➤ orbitales atomiques naturelles

Reed et al J. Chem. Phys. **1985**, 83, 735

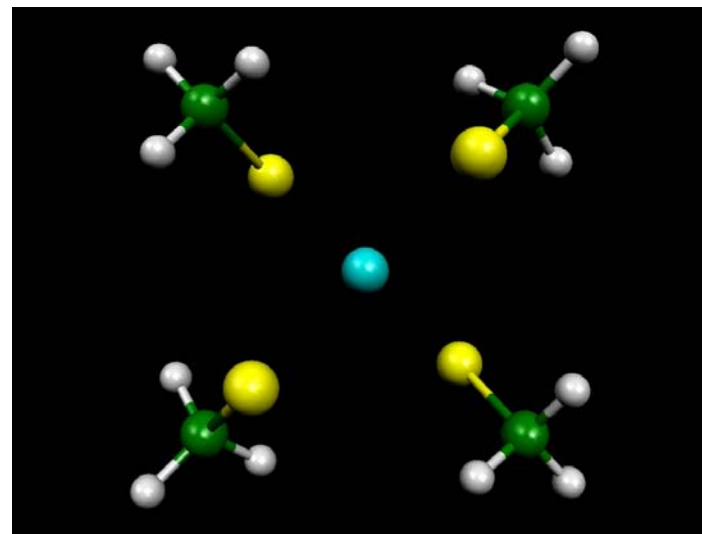
➤ orbitales moléculaire localisées

Ruedenberg et al Chem. Phys. **1982**, 71, 41

charge Cd: +1.51

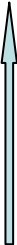
liaison: 7% Cd

$d(\text{Cd-S}) = 2.53 \text{ \AA}$



Liaisons Cd-S dans le cluster

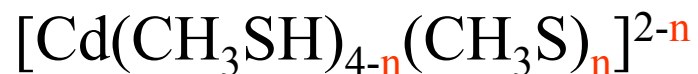
 Cd-S pontant: 5% Cd

 Cd-S terminal: 10% Cd

Effets de la protonation

Expliqués par la dépendance du transfert de charge $S \Rightarrow Cd$ en fonction du potentiel d'ionisation de S :

- $I_p(\text{thiol}) = 208 \text{ kcal/mol}$
- $I_p(\text{thiolate}) = 49 \text{ kcal/mol}$



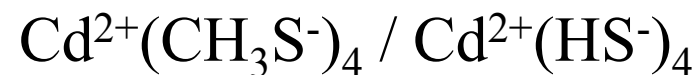
| <i>n</i> | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|-------------------------|------|------|------|------|------|
| <i>Cd—S⁻</i> | — | 2.35 | 2.36 | 2.45 | 2.53 |
| <i>Cd—SH</i> | 2.54 | 2.61 | 2.81 | >3.4 | — |

Systemes modèle

S1

S2

Comparaison des unités de base (RHF-MP2) :



➤ RMSD(d) = 0.017 Å

➤ RMSD(θ) = 3°

Structure du complexe $[\text{Cd}_4(\text{HS})_{11}]^{3-}$ (RHF-MP2)

$$RMS = \sqrt{\sum_{i=1}^N (d_i - d_i^{ex})^2 / N}$$

$$RMS(\text{Cd-S}) = 0.05 \text{ \AA}$$

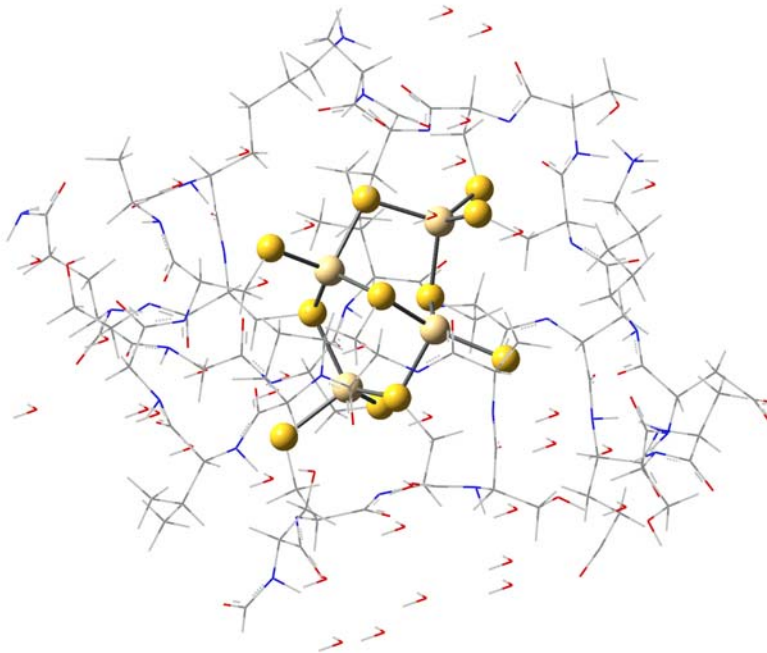
$$RMS(\text{S-Cd-S}) = 9^\circ (>3^\circ)$$

Conclusion : la structure du cluster naturel est déformée par rapport à la structure optimum dans le vide

$$\Delta E_{def} = 40 \text{ kcal/mol}$$

Comparable à une distorsion due au mouvement thermique (60kcal/mol)

Optimisation mixtes: QM/MM



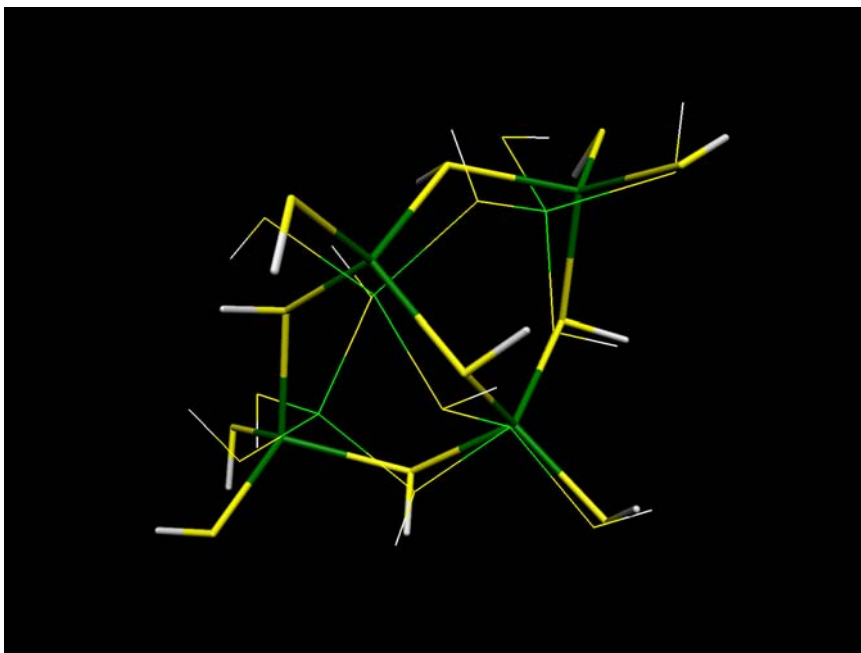
GAMESS (RHF)+TINKER(MM)

adaptation des programmes

méthode: IMOMM (Integrated Molecular Orbital-Molecular
Mechanics)

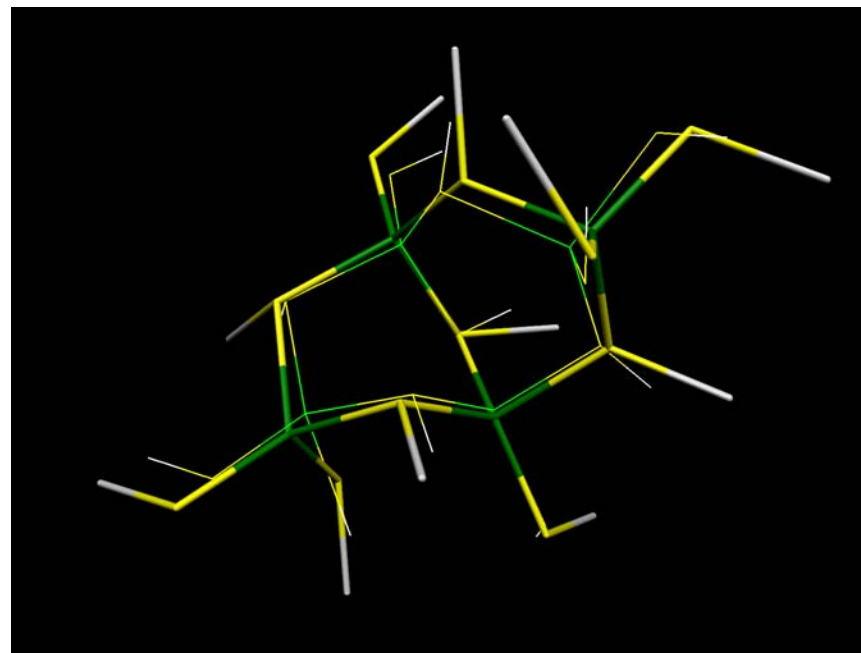
Maseras and Morokuma, J. Comput. Chem. 1995, 16, 1170

Influence de la structure protéique (RHF)



Cluster(QM)/Cluster(Exp.)

RMSD(cart) = 1.18 Å



Cluster(QM/MM)/Cluster(Exp.)

RMSD(cart) = 0.46 Å

Rappel de résultats

- Choix et test d'une méthode de calcul efficace pour les complexes Cd-thiol
- Analyse de la nature de la liaison Cd –S dans les complexes Cd-thiol
- Optimisation *in vacuo* de la structure du centre chélateur des MeT et mise en évidence de l'effet de la structure protéique environnante
- Optimisation du champs de forces classique
- Applications au calcul des structure oxydées et réduites