

ФИЗИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ МЕХАНИЗМА АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА, НАБЛЮДАЕМОГО В ЗРИТЕЛЬНОМ РОДОПСИНЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТА

Васильева-Вашакмадзе Н.С., Тоидзе П.Л., Гахокидзе Р.А., Манукян А.С.

Тбилисский государственственный университет им. Ив. Джавахишвили

пр. Чавчавадзе, 1, г. Тбилиси, 0179, Грузия

e-mail: nonavas@rambler.ru

Аннотация. На основе использования классической электродинамики приводится соотношение, выражающее связь между перераспределением электронной плотности в зрительном родопсине при воздействии света и появлением деформирующей силы, изменяющей конфигурацию α -спиральной субъединицы опсина – белковой компоненты зрительного родопсина, т.е. силы вызывающей аллостерический эффект. Для уточнения полученного соотношения применялась квантовая теория молекул – метод самосогласованного поля (ССП), в рамках которого получено уточненное соотношение между сдвигом электронной плотности и деформирующей силой. Был проведен компьютерный эксперимент с использованием программы HyperChem, основанной на квантовой теории молекул. Результаты, полученные в ходе компьютерного эксперимента, приведенные на рисунках, иллюстрируют корреляцию между смещением электронной плотности в системе и изменением пространственной конфигурации (конформационным сдвигом) в α -спиральной субъединице т.е. аллостерический эффект.

Ключевые слова: аллостерический эффект, зрительный родопсин, конформационный сдвиг, активация родопсина.

PHYSICAL MODEL OF ALLOSTERIC MECHANISM OF THE EFFECT OBSERVED IN THE VISUAL RHODOPSIN WHEN EXPOSED TO LIGHT

Vassilieva-Vashakmadze N.S., Toidze P.L., Gakhokidze R.A., Manukyani A.S.

Iv. Javakhishvili Tbilisi State University

Chavchavadze ave, 1, Tbilisi, 0179, Georgia

e-mail: nonavas@rambler.ru

Abstract. Based on the use of classical electrodynamics, here is presented a ratio expressing the relationship between the redistribution of electron density in visual rhodopsin exposed to light and appearance of deforming force that changes the configuration of opsin's α -helical subunits – the protein component of visual rhodopsin, i.e. the force causing an allosteric effect. To specify the obtained relation, quantum theory of molecules has been applied – a method of self-consistent field (SCF), in which we obtained more accurate relationship than classical between the shift of electron density and deforming force. Computer experiment has been held using HyperChem program, which is based on the quantum theory of molecules. The results obtaining during computer simulation (shown in the figures) illustrate the correlation between displacement of electron density in the system and change of spatial configuration (conformation shift) in the α -spiral subunit, allosteric effect.

Key words: allosteric effect, visual rhodopsin, conformation shift, rhodopsin activation.

В темноте, как известно, в зрительном родопсине 11-цис-ретиаль через протонированное шиффово основание (ш.о.) связан с Lys296, локализованный на VII- α -спиральной субъединице [1]. Протон при азоте ш.о. образует водородную связь через Glu 113 на III α -спирали опсина. При освещении родопсина происходит поглощение светового кванта 11-цис-ретиалем, что приводит в первую очередь к электронному $\pi \rightarrow \pi^*$ переходу и перераспределению электронной плотности в цепи связей между ретиалем и VII α -спиральной субъединицей опсина через ш.о. и Lys296 [2, 3].

Электронные процессы сопровождаются структурными изменениями в системе:

Цис-транс изомеризация ретиналя;

Депротонирование азота ш.о. и смещение протона к III α -спирали;

Изменение конформации VII α -спирали на стадии (метародопсин II) и т.д.

Как упоминалось выше, при поглощении светового кванта 11-цис-ретиалем в электронной системе происходит $\pi \rightarrow \pi^*$ переход, который сопровождается перераспределением электронной плотности, т.е. движением электронов вдоль цепочки связей (аналог мезомерного и индуктивного эффектов). Вместе с тем, макромолекулы белков – это большие многоатомные системы, к которым допустимо применение макроскопических законов. Перераспределение электронной плотности в системе эквивалентно электронному току. Замечено, что это сопровождается конформационным сдвигом [4, 5].

Согласно законам классической электродинамики, движение зарядов т.е. токи, независимо от причины их вызывающей, в α -спиральных фрагментах должны индуцировать деформирующую силу (силу Ампера), способную изменить их конформацию [6, 7]:

$$F(t) = k \frac{N^2 S(t)}{l^2(t)} I^2(t) \quad (1)$$

где k – коэффициент, зависящий от системных единиц; N – число витков; S – поперечное сечение; l – длина α -спирального фрагмента; $I(t)$ – электронный ток; $F(t)$ – деформирующая сила, способная вызывать конформационный переход в α -спиральных фрагментах.

Соотношение (1) позволяет предположить, что в основе механизма аллостерического эффекта наблюдаемого при воздействии света на зрительный родопсин, лежит взаимосвязь между током электронов и деформирующей силой, действие которой способно изменить пространственную конфигурацию α -спиральных субъединиц белковой компоненты родопсина.

Представляет интерес изучение этого вопроса на макроскопическом уровне. С этой целью была использована программа NuregChem, разработанная на основе теории самосогласованного поля (ССП) [8]. В соответствии с квантовой теорией самосогласованного поля молекулы или молекулярные комплексы представляют собой систему из двух взаимосвязанных подсистем: электронной и ядерной [9]. На действие внешних электрических полей в первую очередь реагирует более легкая – электронная подсистема ($\frac{m_e}{m_n} \sim 10^{-3}$). Согласно квантовой теории происходит перераспределение электронной плотности в системе – индуцируются локальные электронные токи [8, 9] и в ответ на это, согласно принципу СПП происходит перестройка конфигурации ядерной подсистемы. Рассматривая молекулу под действием внешнего электромагнитного поля в рамках теории возмущений, в гамильтониан основного состояния следует добавить операторы возмущений:

$$\widehat{H} = \widehat{H}_0 + \Delta\widehat{H}; \quad (2)$$

$$\Delta\widehat{H} = \sum_i \Delta\widehat{H}_i \quad (3)$$

$$\Delta\widehat{H}_1 = k_1 \frac{(\vec{J}_k \vec{J}_n)}{R_{kn}} \quad (4)$$

$$\Delta\widehat{H}_2 = k_2 \frac{(\vec{\mu}_k \vec{\mu}_n)}{R_{kn}^2} \quad (5)$$

где $\Delta\widehat{H}_i$ располагаются по уменьшению значимости, \vec{J}_k – операторы токов, R_{kn} – расстояние, $\vec{\mu}_k$, $\vec{\mu}_n$ – операторы магнитных моментов. используя известные операции и построив потенциальную поверхность $W(t)$, можно определить (в квазиклассическом приближении) внутримолекулярную деформирующую силу $F(t)$. Учитывая только $\Delta\widehat{H}_1$, получим:

$$F_{kn}^{(1)} = - \left[\frac{\partial}{\partial R_{kn}} \sum_{k>n} \frac{(\vec{J}_k \vec{J}_n)}{R_{kn}} \right]_0 \rightarrow F_{kn}^{(1)} = \frac{(\vec{J}_k \vec{J}_n)}{R_{kn}^2} \quad (6)$$

где \vec{J}_k , \vec{J}_n – усредненные по волновым функциям основные соотношения. Учет возмущения $\Delta\widehat{H}_2$ дает поправку к выражению:

$$\Delta F_{kn} = - \left[\frac{\partial}{\partial R_{kn}} \frac{\sum (\vec{\mu}_k \vec{\mu}_n)}{R_{kn}^3} \right]_0 = \frac{(\vec{\mu}_k \vec{\mu}_n)}{R_{kn}^4} \quad (7)$$

т.е.

$$F_{kn}^{(2)} = k_1 \frac{(\vec{J}_k \vec{J}_n)}{R_{kn}^2} + k_2 \frac{(\vec{\mu}_k \vec{\mu}_n)}{R_{kn}^4} + \dots \quad (8)$$

$$F_{kn}^{(2)} = F_{kn}^{(1)} + \Delta F_{kn} \quad (9)$$

Сравнивая (8) и (9) с макроскопическим выражением (1), можно заметить, что выражения (8) и (9), полученные на основе применения квантовой теории, содержат $F_{kn}^{(1)}$ – аналог классического выражения (1) и уточняющую поправку $\Delta F_{kn}(7)$.

На рисунках 1 и 2, полученных на основе компьютерного эксперимента, отчетливо видно изменение пространственной конфигурации со сдвигом электронной плотности в системе.

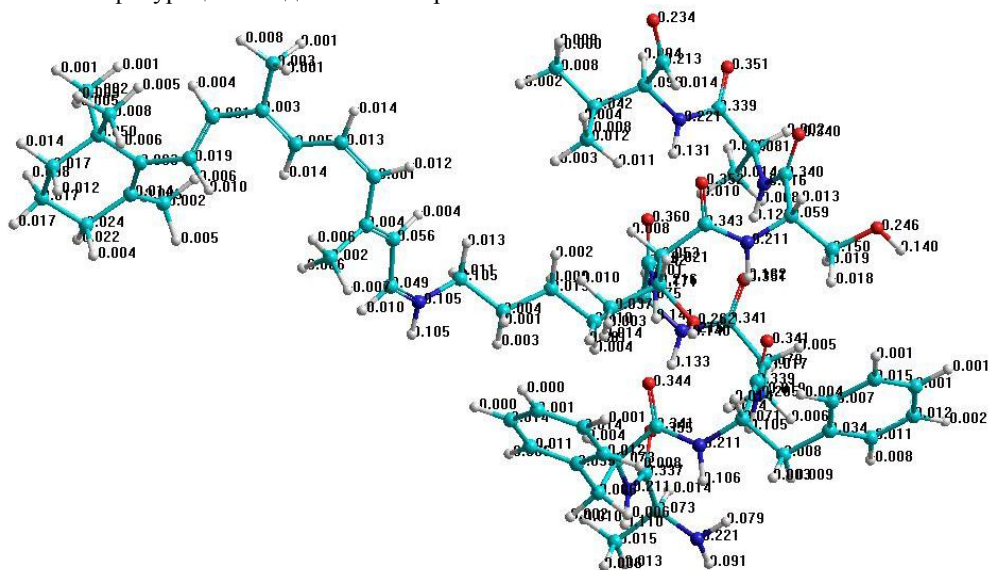


Рисунок 1а – Эффективные заряды на атомах, в системе состоящей из 11-цис-ретинала, который через протонированное шиффово основание соединяется с Lys 296, локализованным на VII α -спирали опсина (в темноте)

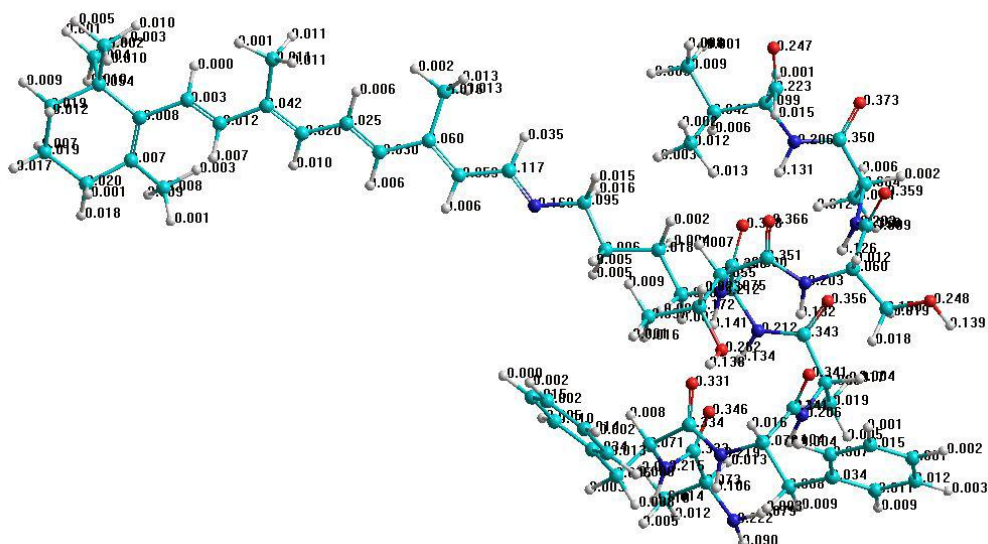


Рисунок 16 – Эффективные заряды на атомах в системе состоящей из полностью транс-ретиная, который через шиффово основание (с депротонированным азотом) соединен с Lys 296, локализованным на VII α -спирали опсина (на свету)

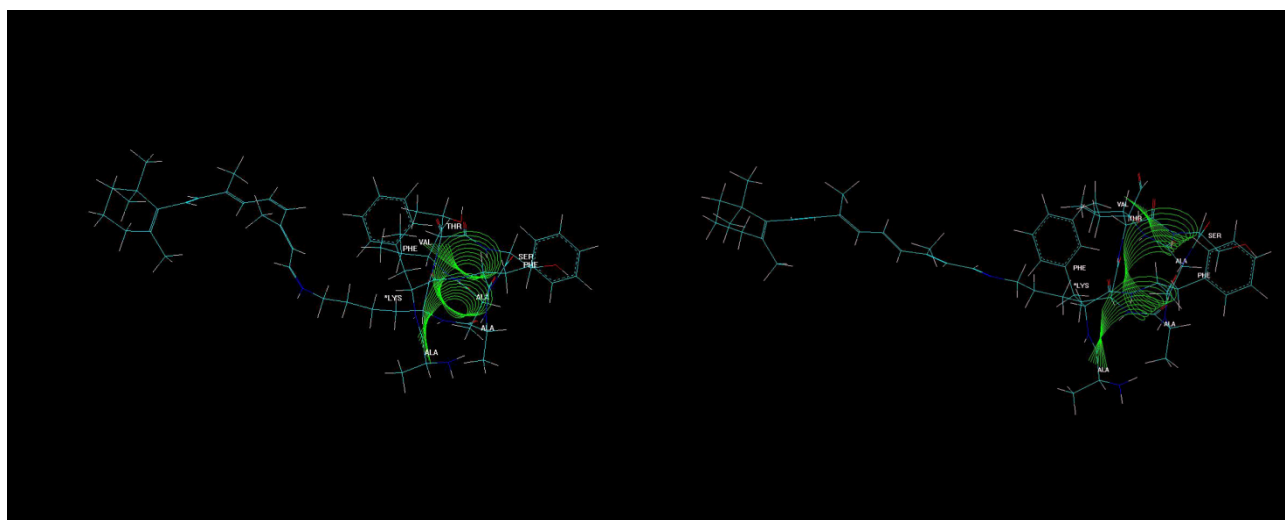


Рисунок 2 – Пространственная конфигурация фрагмента α -спиральной субъединицы опсина в темноте (слева) и на свету (справа)

Выводы. В работе сделаны выводы, что и в рамках законов классической электродинамики и на основе квантовой теории ССП в белковых субъединицах (при воздействии внешних факторов) выявляется внутренняя взаимосвязь между поляризацией – локальными электронными токами, и деформирующей силой, способной изменить конфигурацию молекулы, т.е. вызвать аллостерический эффект.

Список литературы / References:

1. Shichida Y., Imai H. Visual pigment: G-protein-coupled receptor for light signals. *Cell Mol Life Sci.*, 1998, vol. 54 (12), pp. 299-315.
2. Каламкар Г.Р., Островский М.А. *Молекулярные механизмы зрительной рецепции*. М: Наука, 2002, с.11-22. [(In Russ.)]
3. Скулачев В.П. *Рассказы о биоэнергетике*. 2 изд. Молодая гвардия, 1982, 150 с. [Kalamkarov G.R., Ostrovsky M.A. *Molecular mechanisms of visual reception*. М: Nauka, 2002, 150 p. (In Russ.)]
4. Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.*, 1952, no. 117, pp. 500-544.
5. Armstrong C.M., Bezanilla F. Charge movement associated with the opening and closing of the activation gates of the Na channels. *J. Gen. Physiol.*, 1974, vol. 63 (5), pp. 533-552.
6. Vasilieva-Vashakmadze N.S. *Physical mechanisms of biological processes*. LAP Lambert Ac., Pub., Saarbrücken, 2014, 100 p.

7. Васильева-Вашакмадзе Н.С. О внутренней взаимосвязи между аллостерическим, мезомерным и индуктивным эффектами. *Матер. док. V съезда Биофизиков России*, Ростов-на-Дону, 2015, т. 1, с. 72. [Vasilieva-Vashakmadze N.S. The intrinsic relationship between allosteric, mesomeric and inductive effects. *Rep. Mater. V Congress of Russian Biophysicists*. Rostov-na-Dony, 2015, vol. 1, p.72. (In Russ.)]

8. Vasilieva-Vashakmadze N.S., Toidze P.L., Khachatryan I., Gakhokidze R.A., Archvadze K. To computer model for some biological hypothesis. *Report for Enlarged Session of the Seminar Mathem.*, Tbilisi, 2013, p. 23.

9. Мак-Вини Р., Сатклиф Б. *Квантовая механика молекул*. М: Мир, 1990, 381 с. [McWeeny R., Satcliffe B. *Molecular quantum mechanics*. М: Mir, 1990, 381p. (In Russ.)]

ПОЛИМЕРАЗНО-ТАУТОМЕРНАЯ МОДЕЛЬ МЕХАНИЗМА ОБРАЗОВАНИЯ МИШЕННЫХ СЛОЖНЫХ ИНСЕРЦИЙ ПРИ СИНТЕЗЕ ДНК, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИС-СИН ЦИКЛОБУТАНОВЫЕ ТИМИНОВЫЕ ДИМЕРЫ

Гребнева Е.А.

Донецкий физико-технический институт
ул. Р. Люксембург, 72, г. Донецк, 83114, Украина
e-mail: grebneva@gmail.com

Аннотация. В настоящее время не вполне ясен механизм образования сложных мутаций сдвига рамки считывания, вызванных циклобутановыми пиримидиновыми димерами. Сложные мутации сдвига рамки считывания это мутации сдвига рамки, рядом с которыми находятся мутации замены оснований. Автор предложила и развивает полимеразно-таутомерную модель ультрафиолетового мутагенеза. Предлагается модель механизма образования мишеных сложных инсерций, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминными димерами. Рассмотрен склонный к ошибкам или SOS-синтез двунитевой ДНК, содержащей в одной из своих нитей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры TT_1^* , TT_2^* и TT_5^* . *Цис-син* циклобутановые тиминные димеры TT_1^* , TT_2^* и TT_5^* содержат основания ДНК в редких таутомерных формах. *Цис-син* циклобутановый тиминный димер TT_2^* приводит к появлению мутации сдвига рамки считывания, то есть к вставке одного или нескольких нуклеотидов. А *цис-син* циклобутановые тиминные димеры TT_1^* и TT_5^* приводят к появлению мутаций замены оснований. Таким образом, вследствие образования инсерции участок ДНК удлиняется, а вследствие образования нескольких мутаций замены оснований изменяется его нуклеотидный состав. В результате участок ДНК определенной длины и определенного нуклеотидного состава заменяется участком другой длины и другого нуклеотидного состава. Появляется мишенная сложная мутация.

Ключевые слова: ультрафиолетовый мутагенез; полимеразно-таутомерная модель; мишенные сложные мутации; мишенные сложные инсерции; склонная к ошибкам репликация; SOS-репликация; редкие таутомерные формы оснований ДНК; *цис-син* циклобутановые тиминные димеры.

POLYMERASE-TAUTOMERIC MODEL FOR MECHANISM OF TARGETED COMPLEX INSERTIONS FORMATION UNDER SYNTHESIS OF DNA CONTAINING CIS-SYN CYCLOBUTANE THYMINE DIMERS

Grebneva H.A.

Donetsk Physical and Technical Institute
R. Luxemburg St., 72, Donetsk, 83114, Ukraine
e-mail: grebneva@gmail.com

Abstract. Now the mechanism of complex mutations formation that is called cyclobutane pyrimidine dimers has not been yet explained. Complex frameshifts are frameshifts with an adjacent base substitution. The author has proposed and developed polymerase-tautomeric model of ultraviolet mutagenesis. The mechanism of targeted complex insertions formation that is called *cis-syn* cyclobutane thymine dimers is proposed. It is considered error-prone or SOS-synthesis of double-stranded DNA containing in one of its strands *cis-syn* cyclobutane thymine dimers TT_1^* , TT_2 and TT_5^* . *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers TT_1^* , TT_2 and TT_5^* have DNA bases in rare tautomeric forms. *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers TT_2^* leads to a frameshift mutations, that is to insert one or more nucleotides. *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers TT_1^* and TT_5^* cause substitution mutations formation. Thus, due to the formation of DNA insertion portion is extended and due to the formation of several base substitution mutations changing its nucleotide composition. As a result of the DNA portion of a certain length and nucleotide composition of a certain portion is replaced by a different length and a different nucleotide composition. Targeted complex mutation is appeared.

Key words: ultraviolet mutagenesis; polymerase-tautomeric model; targeted complex mutations; targeted complex insertions; error-prone replication; SOS replication; rare tautomeric forms of DNA bases; *cis-syn* thymine cyclobutane dimers.

Облучение молекулы ДНК ультрафиолетовым светом приводит к появлению фотопродуктов, чаще всего образуются *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, в которых ориентация оснований относительно сахаро-фосфатного остова не изменяется. Они вызывают мутации замены оснований [1], сдвига рамки чтения [1, 2] и сложные мутации [3]. Когда мутации образуются напротив циклобутановых пиримидиновых димеров, такой мутагенез называется мишенным [4, 5]. Сложными мутациями называются такие мутации, когда участок ДНК