

Diss. ETH No. 15653

Molecular Dynamics Simulations of Rhodopsin: Insights into the Early Steps of the Signaling Pathway

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology
Zürich

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Ute Friederike Röhrig
Dipl.-Chem., Ludwig-Maximilians-Universität München
born February 2, 1976
citizen of Germany

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Michele Parrinello, examiner
Prof. Dr. Ursula Röthlisberger, co-examiner

2004

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit ist es, mit Hilfe von Moleküldynamik-Simulationen Einsicht in den molekularen Mechanismus der ersten Schritte des Sehvorgangs zu gewinnen. Die Initialreaktion im menschlichen Sehprozesses ist die 11-*cis* nach all-*trans* Photoisomerisierung des Chromophors von Rhodopsin, der protonierten Schiffischen Base von Retinal. Diese extrem schnelle und effiziente Reaktion läuft innerhalb von 200 fs und mit einer Quantenausbeute von 65% ab. Rhodopsin, ein Sehpigment in der Netzhaut, wird sowohl experimentell als auch theoretisch seit langem untersucht, aber die Details der Initialreaktion und der dadurch induzierten Konformationsänderungen des Proteins sind noch unbekannt.

Ausgehend von der Kristallstruktur von Rinderrhodopsin führen wir eine klassische Moleküldynamik-Studie des Proteins in einer membranmimetischen Umgebung aus. Die Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Protein werden sowohl im 11-*cis* als auch im isomerisierten all-*trans* Zustand beschrieben. Isomerisierung erzeugt einen intern gespannten Chromophor, der nach wenigen Nanosekunden durch Bewegung des Iononrings zu einer planaren all-*trans* Konformation relaxiert. Diese strukturelle Änderung des Retinals führt in der Folge zu Konformationsänderungen im Protein, besonders in Helix VI. Unsere Resultate deuten einen möglichen molekularen Mechanismus der Anfangsschritte der Signaltransduktion in einem prototypischen G-Protein gekoppelten Rezeptor an.

Ein neuer quantenmechanischer/klassischer (QM/MM) Ansatz für die Beschreibung von elektronisch angeregten Zuständen wird an einem gut untersuchten System getestet. Car-Parrinello QM/MM Moleküldynamik-Simulationen für Aceton in Wasser werden sowohl im Grund- als auch im angeregten Zustand ausgeführt. Die experimentell beobachtete Blauverschiebung der Anregungsenergie von der Gasphase zur wässrigen Phase wird gut reproduziert. Moleküldynamik im angeregten Zustand mit der "restricted open-shell Kohn-Sham" (ROKS) Methode zeigt die Relaxation des Acetons und die Umorientierung der Lösungsmittelstruktur auf der Pikosekunden Zeitskala. Die berechnete Stokesverschiebung

ist in Übereinstimmung mit experimentellen Daten.

Dieser QM/MM Ansatz wird im folgenden verwendet, um die Photoreaktion in Rhodopsin zu beschreiben. Wir führen Moleküldynamik-Simulationen von Rhodopsin in einer membranmimetischen Umgebung aus, wobei der ganze Chromophor auf dem Dichtefunktionaltheorie-Niveau beschrieben wird. *In situ* Photoisomerisierung ergibt einen hochgespannten *all-trans* Chromophor, der innerhalb von etwa 100 fs durch geringfügige Umlagerung der Atome unter Beibehaltung der Salzbrücke mit dem Gegenion und sehr geringfügiger Deformierung der Protein-Bindungstasche gebildet wird. Diese gespannte "molekulare Feder" kann im folgenden ihre Spannungsenergie durch Änderung der Proteinumgebung freisetzen.

Eine weitere Methode für die Beschreibung angeregter Zustände, die zeitabhängige Dichtefunktionaltheorie (TDDFT), wird auf ihre Anwendbarkeit für Moleküldynamik-Simulationen geprüft. Photoisomerisierungen von C=C, C=N und N=N Doppelbindungen in kleinen Molekülen werden untersucht. Während die Beschreibung von $n \rightarrow \pi^*$ Anregungen Resultate in Übereinstimmung mit etablierten theoretischen Konzepten liefert und darüberhinaus Einsichten in die Reaktionsdynamik bietet, stellt die Beschreibung der $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung in protonierten Schiffchen Basen ein Problem für die Methode dar.

Der letzte Teil dieser Arbeit befaßt sich mit der Dynamik und den optischen Eigenschaften der protonierten Schiffchen Base von Retinal in Rhodopsin. Sowohl der Ruhezustand von Rhodopsin als auch Modelle der frühen Zwischenprodukte des Photozyklus' werden durch Moleküldynamik-Simulationen untersucht. Absorptionsspektren werden mit TDDFT auf konsistente Weise für alle Strukturen berechnet, indem Konfigurationen des Chromophors von Moleküldynamik-Simulationen bei Raumtemperatur ausgewählt werden. Mögliche Interpretationen der berechneten Spektren im Hinblick auf die experimentellen Daten für die Zwischenprodukte des Photozyklus' werden diskutiert.

ABSTRACT

The aim of this thesis is to gain insight into the molecular mechanism of the first steps of the visual cascade by molecular dynamics simulations. The primary event in human vision involves 11-*cis* to all-*trans* photoisomerization of the chromophore of rhodopsin, the retinal protonated Schiff base. This extremely fast and efficient process is completed within 200 fs and displays a quantum yield of 65%. Rhodopsin, a visual pigment located in the retina, has been investigated thoroughly both experimentally and theoretically, but the details of the primary reaction mechanism and of the induced conformational changes in the protein remain open issues.

Based on the crystal structure of bovine rhodopsin, a classical molecular dynamics study of the protein in a membrane-mimetic environment is carried out. The interactions between the protonated Schiff base and the protein moiety are explored both with the chromophore in the dark-adapted 11-*cis* and in the photoisomerized all-*trans* state. Isomerization leads to an internally strained chromophore, which relaxes after a few nanoseconds by a switching of the ionone ring to an essentially planar all-*trans* conformation. This structural transition of the retinal induces in turn significant conformational changes of the protein backbone, especially in helix VI. The results suggest a possible molecular mechanism for the early steps of intramolecular signal transduction in a prototypical G-protein coupled receptor.

A novel hybrid quantum/classical (QM/MM) molecular dynamics approach capable of describing electronically excited states is tested on a well-studied system. Car-Parrinello QM/MM molecular dynamics simulations are carried out for acetone in aqueous solution both in the ground state and in the first excited singlet state. The experimentally observed blueshift of the excitation energy in going from gas phase to condensed phase is well reproduced. Excited-state dynamics using the restricted open-shell Kohn-Sham (ROKS) method yield the relaxation of the solute and the rearrangement of the solvent structure on a picosecond timescale. The calculated Stokes shift is in agreement with experimental data.

This QM/MM approach is used in the following to model the photoreaction in rhodopsin. Molecular dynamics simulations of rhodopsin in a membrane-mimetic environment are carried out, treating the full chromophore at the density functional theory level. *In situ* photoisomerization yields a highly strained all-*trans* chromophore that is formed in about 100 fs by a minor rearrangement of the nuclei under preservation of the saltbridge with the counter ion and virtually no deformation of the protein binding pocket. This compressed “molecular spring” can in the following release its strain by altering the protein environment.

Another method for the description of electronically excited states, time-dependent density functional theory (TDDFT), is tested for its applicability in excited-state molecular dynamics simulations. It is applied to the study of photoisomerizations of C=C, C=N, and N=N double bonds in small molecules. While the description of $n \rightarrow \pi^*$ excitations yields results in agreement with established theoretical concepts and gives further insights into the reaction dynamics, the description of the $\pi \rightarrow \pi^*$ excitation in protonated Schiff bases poses problems to the method.

In the last part of this work we investigate the dynamics and the spectral properties of the retinal protonated Schiff base in bovine rhodopsin by means of molecular dynamics simulations of the protein, treating the chromophore at the density functional theory level. Simulations are carried out for the dark-adapted state as well as for models of the early photointermediates. Absorption spectra are calculated for all structures within TDDFT in a consistent way, based on chromophore configurations taken from molecular dynamics simulations at ambient temperature. The obtained spectra are discussed with respect to experimental data available for the intermediates of the rhodopsin photocycle.