

بررسی ساختاری پروتئین باکتریوردوپسین در اثر جذب امواج مایکروویو با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

فائزه متقی‌طلب¹، سید شهریار عرب^{2*}، جعفر محمدیان³

1- کارشناسی ارشد بیوشیمی، پژوهشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک‌اشتر، تهران

2- استادیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

3- استادیار، پژوهشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک‌اشتر، تهران

* تهران، صندوق پستی 15875 - 1774

sh.arab@modares.ac.ir

(دریافت مقاله: 93/12/27 پذیرش مقاله: 94/3/19)

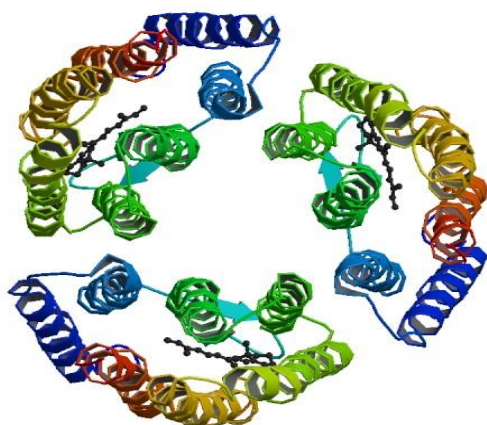
چکیده - باکتریوردوپسین پروتئینی غشایی است که در هالوباکتریوم سالیناروم به عنوان پمپ پروتون وابسته به نور عمل می‌کند. این پروتئین شامل هفت زیرواحد ماریپچ آلفا (ماریپچ‌های A تا G)، یک صفحه بتا و یک کروموفور رتینال است. مطالعات نشان می‌دهد که پروتئین باکتریوردوپسین دارای خاصیت جذب امواج مایکروویو است. یکی از رایج‌ترین و اصولی‌ترین روش‌های مطالعه ماکرومولکول‌های زیستی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی است. با استفاده از این روش می‌توان تغییرات و دینامیک ساختاری ماکرومولکول‌های زیستی و کمپلکس آن‌ها را مطالعه کرد. در پروژه حاضر، از مدل‌سازی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شده است. پس از مرحله تعادل و برای بدست آوردن ساختارهای یک‌دست‌تر در مرحله تولید، شبیه‌سازی به مدت 15 نانوثانیه انجام شد، سپس به منظور بررسی مناطق مؤثر در جذب امواج مایکروویو شبیه‌سازی دینامیک مولکولی همراه با اعمال میدان الکتریکی به مدت زمان 786 پیکوثانیه که برابر با مدت زمان تناوب یک موج سینوسی در طیف رادار می‌باشد، روی کل ساختار پروتئین انجام شد. در نهایت، تغییرات کنفورماسیونی حاصل مورد بررسی قرار گرفت تا مناطق مؤثر در جذب امواج تعیین شود. مطالعه انجام گرفته نشان می‌دهد که امواج مایکروویو در فرکانس 8 گیگاهرتز و در بازه زمانی ذکر شده نمی‌تواند تغییرات ساختاری گسترده‌ای را در پروتئین ایجاد کند. از سوی دیگر تغییرات ساختاری برگشت‌پذیری در مناطق صفحه بتا و ماریپچ‌های C، D و B تحت تأثیر میدان مشاهده گردید.

کلیدواژه‌گان: شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، باکتریوردوپسین، جذب امواج مایکروویو.

غشایی است. این پروتئین در دیواره سلولی هالوباکتریوم سالیناروم یافت می‌شود. باکتری هالوباکتریوم سالیناروم که از جنس هالوباکترهاست در محیط‌هایی با غلظت بالای

1- مقدمه

باکتریوردوپسین (bR) به عنوان یک پمپ پروتون وابسته به نور مدل کامل و مناسبی برای مطالعه پروتئین‌های



شکل 1 ساختار تریمر پروتئین باکتریوردوپسین

شبیه‌سازی اطلاعات مهمی را درباره حرکات ذرات مجزا در مولکول بر حسب تابعی از زمان در اختیار قرار می‌دهد. با استفاده از این اطلاعات با سهولت بیشتری می‌توان به سؤالات مشخصی در مورد خصوصیات سیستم مدل‌سازی شده پاسخ داد. پاسخ به این سؤالات با انجام آزمایش در سیستم‌های واقعی با دشواری‌های بیشتری همراه است. برای بررسی بسیاری از جنبه‌های عملکرد مولکول‌های زیستی، اطلاعات حاصل از روش دینامیک مولکولی همواره مورد توجه بوده است. با استفاده از نتایج حاصل از شبیه‌سازی می‌توان داده‌های حاصل از روش‌های تجربی را تکمیل کرد [12]. از آنجایی که فرآیند جذب امواج توسط پروتئین بسیار سریع است، توانایی منحصر به فرد روش دینامیک مولکولی در بررسی بازه‌های زمانی بسیار کوتاه در ساختار مولکول، می‌توان تغییرات رفتاری پروتئین و نیز تأثیر جذب امواج بر ساختار و دینامیک را به خوبی نشان داد و نیز مناطق مؤثر در جذب امواج را شناسایی نمود. علی‌رغم وجود مطالعات متعدد [13-18] دینامیک مولکولی بر پروتئین باکتریوردوپسین، مطالعه مشابهی با این رویکرد انجام نشده است، لذا نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری را در مورد فرآیند جذب در سطح مولکولی در اختیار قرار دهد.

نمک مثل دریاچه‌های نمک و آب دریا‌های شور یافت می‌شود. این ارگانیزم هالوفیل هوازی در شرایط غلظت پایین اکسیژن و تابش نور از مراکز احیای مبتنی بر کلروفیل استفاده نمی‌کند، بلکه از رتینال (به عنوان مبدل انرژی) و پروتئین باکتریوردوپسین به عنوان پمپ پروتون استفاده می‌نماید [1-4]. وزن این پروتئین 26 کیلو دالتون و از 248 اسید آمینه تشکیل شده است. ساختار سوم پروتئین شامل هفت مارپیچ آلفا است که هرکدام یک بار عرض غشا را طی می‌کنند و از A تا G نام‌گذاری شده‌اند (شکل 1). مارپیچ‌ها توسط لوپ‌های کوتاه خارج غشایی به هم متصل شده‌اند، به طوری که N- ترمینال پروتئین در سمت خارج غشاء و C- ترمینال آن در سطح سیتوپلاسمیک قرار دارد [5-8]. با توجه به وابستگی بین ساختار و عملکرد در پروتئین‌ها، مطالعه ساختاری می‌تواند به درک عمیق‌تر عملکرد کمک نماید. به علت پیچیده بودن ارتباط بین ساختار و عملکرد در پروتئین‌های غشایی، مطالعات بیشتر با چالش‌های فراوانی مواجه است. در میان روش‌های موجود، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود همانند توانایی محاسبه دینامیک ساختار و برآورد نیروهای بین اتمی و بین مولکولی در فواصل زمانی بسیار کوتاه در حد فمتوثانیه می‌تواند نقش مهمی در درک بهتر رابطه بین ساختار و عملکرد در پروتئین‌ها ایفا کند [9]. از آنجایی که برهمکنش متقابل میان غشا و پروتئین بر عملکرد پروتئین غشایی نقش تعیین‌کننده‌ای دارد، بنابراین غشا از اجزای اصلی و لازم برای هرگونه مطالعه ساختاری در پروتئین‌های غشایی محسوب می‌شود و نادیده گرفتن آن می‌تواند برصحت مطالعه صورت گرفته اثر بگذارد [10]. طبق گزارش‌های موجود مبنی بر وجود خاصیت جذب امواج میکروویو توسط پروتئین باکتریوردوپسین [11] هدف از انجام این مطالعه، بررسی مناطق مؤثر در جذب امواج میکروویو در ساختار تریمر پروتئین با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بوده است.

2- مواد و روش‌ها

اطلاعات ساختار سه بعدی پروتئین باکتیرودوپسین از بانک اطلاعاتی پروتئین (PDB) بدست آمد. به علت تعدد ساختارهای موجود برای این پروتئین پس از انجام بررسی‌ها و مطالعات ویژه، 1FBB که ساختار منومر کنفورماسیون طبیعی باکتیرودوپسین است، به عنوان ساختار اولیه برای انجام بررسی‌های ساختاری انتخاب شد [19]. از آنجا که ساختار طبیعی پروتئین باکتیرودوپسین به صورت تریمر است، برای انجام شبیه‌سازی ساختار طبیعی پروتئین، حالت تریمر آن مدل‌سازی شد. مدل‌سازی ساختار تریمر پروتئین بوسیله نرم‌افزار VMD 1.9.1 [20] انجام شد. همان‌طور که گفته شد، پروتئین باکتیرودوپسین یک پروتئین غشایی می‌باشد، برای شبیه‌سازی محیط طبیعی پروتئین در فضای سلولی ساختار تریمر پروتئین باکتیرودوپسین در یک غشای دو لایه لیپیدی از نوع POPC قرار داده شد. برای ساخت غشا از نرم‌افزار جانبی Membrane Builder موجود در بسته نرم‌افزاری VMD استفاده شد [20].

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی روی سیستم مورد نظر بوسیله نرم‌افزار NAMD 2.8 [21] و با استفاده از میدان نیروی CHARMM 27 [22] انجام شد. بار سطحی سیستم به وسیله غلظت 5/ مولار سدیم کلرید و با افزودن 4 یون سدیم خنثی گردید. مولکول‌های آب موجود در جعبه با استفاده از مدل TIP3P و به ضخامت 5 آنگستروم مدل‌سازی شد. کمینه‌سازی انرژی ساختار با 10000 گام زمانی به طول 2 فمتوثانیه و با روش conjugate gradient انجام شد. سپس سیستم در دمای 300 درجه کلوین و فشار 1 اتمسفر به تعادل رسید که این مرحله در مجموع 1/5 نانوثانیه به طول انجامید.

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در دو مرحله انجام شد. ابتدا برای رسیدن به مجموعه ساختارهای یکدست‌تر شبیه‌سازی اولیه به مدت 15 نانوثانیه برای سیستم انجام

گرفت [23]. در مرحله دوم، دو شبیه‌سازی مجزا در حضور و عدم حضور میدان الکتریکی اجرا و نتایج با هم مقایسه شد. برای مرحله شبیه‌سازی دینامیک مولکولی گام زمانی 1 فمتوثانیه انتخاب شد و میانکنش‌های غیرپیوندی با فاصله 12 آنگستروم و به روش PME محاسبه گردید. مدت زمان یک موج سینوسی در طیف امواج مایکروویو در فرکانس 8 گیگا هرتز معادل 786 پیکوثانیه می‌باشد، که این بازه زمانی طبق فرمول $\sin(\omega t) = 0$ و باتوجه به فرکانس مورد نظر در بازه رادار بدست آمد. شبیه‌سازی نهایی به مدت 786 پیکوثانیه بر روی سیستم پروتئین-غشا اعمال شد. لازم به ذکر است طیف امواج مایکروویو که از دسته امواج الکترومغناطیسی می‌باشد، دارای دو سهم میدان مغناطیسی و الکتریکی می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیقات پیشین در این زمینه مبنی بر عدم تأثیرگذاری میدان مغناطیسی بر ساختار پروتئین و عدم ایجاد تغییرات کنفورماسیونی گسترده در آن، تنها سهم امواج میدان الکتریکی در محاسبات در نظر گرفته شد [24-26].

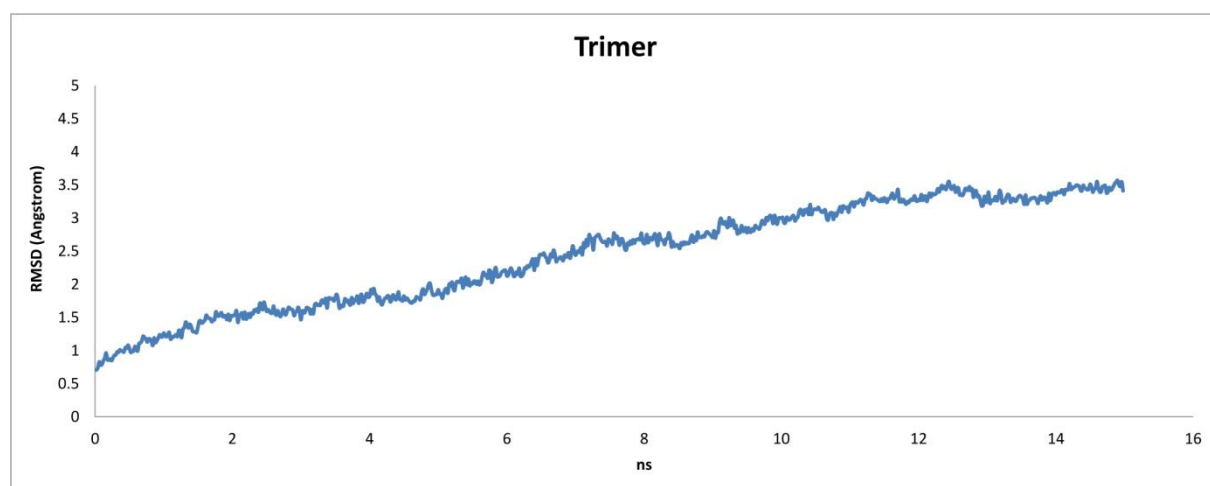
برای اطمینان از درستی اجرای شبیه‌سازی، نتایج حاصل از نظر دما، فشار و پارامترهای انرژی بررسی شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار VMD کمیت‌های انحراف جذر میانگین مربعات (RMSD)، انحراف معیار مکان اتم‌ها (RMSF) محاسبه شد [27-29]. همچنین همدرفی ساختاری با استفاده از فایل‌های PDB ذخیره شده از خروجی شبیه‌سازی در سه لحظه اختصاصی (لحظه اول یا زمان صفر، لحظه میانی یا 390 پیکوثانیه، لحظه پایانی یا 786 پیکوثانیه) توسط نرم‌افزار Swiss-PDB viewer 4.0.1 انجام گرفت [30].

3- نتایج

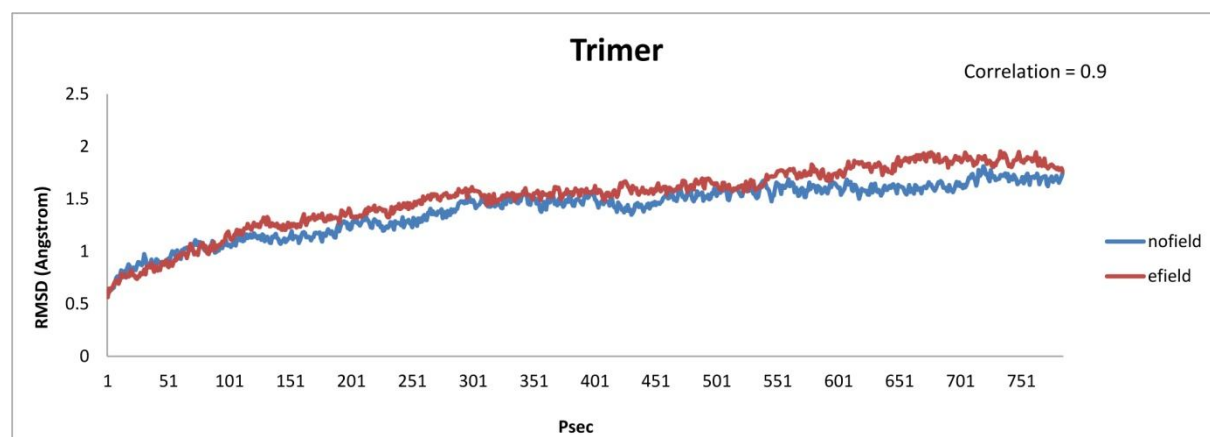
نتایج حاصل از محاسبه کمیت‌های RMSF، RMSD و نیز همدرفی ساختاری بدست آمده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پروتئین غشایی باکتیرودوپسین پس از اعمال

1/7- 0/5 آنگستروم می باشد. میزان ضریب همبستگی مقادیر RMSD نیز 0/9 است. در هیچ کدام از دو حالت مذکور تفاوت محسوسی برای کل ساختار در طول مدت شبیه سازی دیده نمی شود. این نمودار نشان می دهد که یک موج سینوسی میکروویو در فرکانس 8 گیگاهرتز نمی تواند تغییرات کنفورماسیونی شدیدی را در پروتئین ایجاد کند، از این رو برای روشن تر شدن میزان تغییرات ایجاد شده به بررسی رفتار هرکدام از اجزای پروتئین (مارپیچ های هفت گانه و یک صفحه بتا) در ساختار پروتئین تریمر، به صورت جداگانه و تحت دو شرایط مختلف با اعمال میدان و بدون اعمال میدان پرداخته شد.

میدان الکتریکی در مدت 786 پیکوثانیه به شرح زیر است. شکل 2 نمودار RMSD اتم کربن آلفا ساختار تریمر پروتئین باکتريوردوپسین را قبل از اعمال میدان نشان می دهد. میزان تغییرات ساختاری پس از گذشت 12 نانو ثانیه به کمترین میزان خود رسیده است. پس از طی این بازه زمانی می توان گفت پروتئین نسبتاً به ثبات ساختاری رسیده و برای اعمال میدان آماده است. شکل 3 تغییرات RMSD پس از اعمال میدان به مدت 786 پیکوثانیه برای ساختار تریمر را نشان می دهد. بازه تغییرات RMSD ساختار تریمر پروتئین در حالت حضور و عدم حضور میدان به ترتیب 0/5-1/8 آنگستروم و



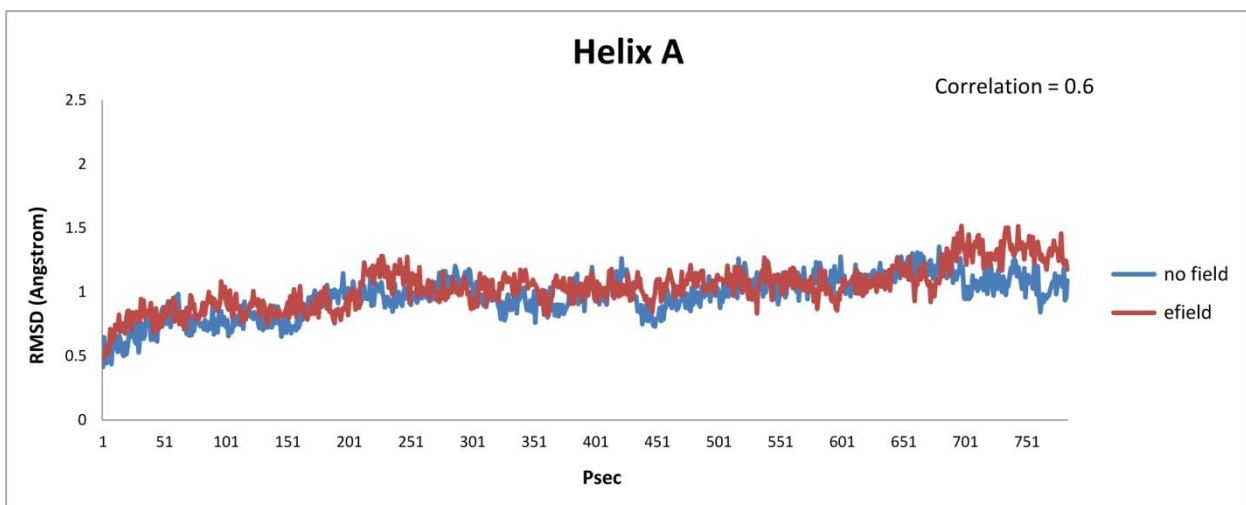
شکل 2 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پروتئین تریمر قبل از اعمال میدان الکتریکی



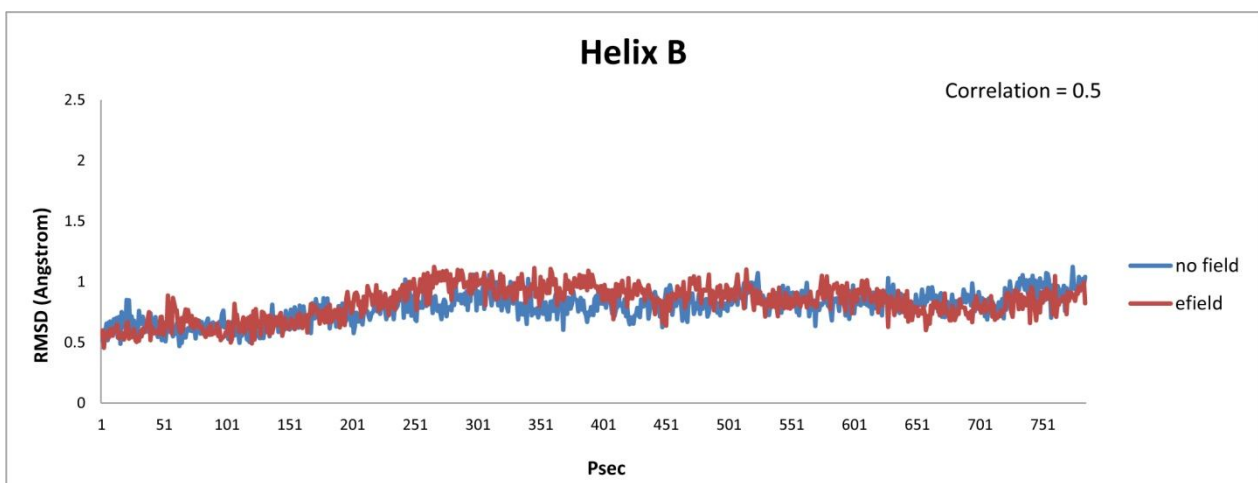
شکل 3 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پس از اعمال میدان برای ساختار تریمر به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی

به صورت کلی، همان‌طور که در شکل 5 نشان داده شده است در مارپیچ B روند تغییرات RMSD در دو حالت شباهت زیادی با هم دارند درحالی که ضریب همبستگی مقادیر RMSD، 0/5 می‌باشد که کمتر از مقدار همبستگی در مارپیچ A است بنابراین هم‌ردیفی ساختاری برای لحظات مشخصی از شبیه‌سازی (مطابق با توضیحات داده شده در بخش روش‌ها) انجام شد تا تغییرات ساختاری با دقت بیشتری بررسی شود.

با توجه به شکل 4 که نشان دهنده تغییرات RMSD مارپیچ A پروتئین باکتريوردوپسین در ساختار پروتئین تریمر درون یک غشای لیپیدی است. با مقایسه تغییرات RMSD این مارپیچ در دو حالت حضور و عدم حضور میدان می‌توان نتیجه گرفت که این تغییرات از الگوی مشابهی تبعیت می‌کنند. همچنین میزان ضریب همبستگی مقادیر RMSD در دو حالت یاد شده، 0/6 می‌باشد که تأیید کننده الگوی مشابه تغییرات در شکل 3 است.



شکل 4 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پس از اعمال میدان برای مارپیچ A در ساختار پروتئین تریمر درون غشای لیپیدی به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی



شکل 5 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پس از اعمال میدان بر مارپیچ B در ساختار پروتئین تریمر درون غشای لیپیدی به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی

آخر بيشتر بوده است. در شكل 6 نيز اين تفاوت مقادير نشان داده شده است.

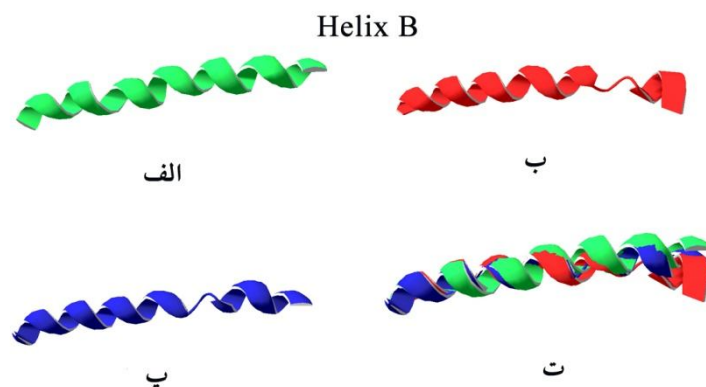
همان طور كه گفته شد، پروتئين باكتريوردوپسين علاوه بر هفت مارپيچ آلفا داراي يك صفحه بتا نيز مي باشد. نمودار مربوط به RMSD اين ناحيه در شكل 7 نشان دهنده تفاوت در روند تغييرات ساختاري در دو حالت موجود مي باشد. كمتربودن ميزان ضريب همبستگي (0/3) نيز تفاوت ساختاري ايجاد شده در اين ناحيه از پروتئين پس از اعمال ميدان را تاثير مي كند.

جدول 1 مقادير ريشه ميانگين مجذور انحراف كربن آلفا

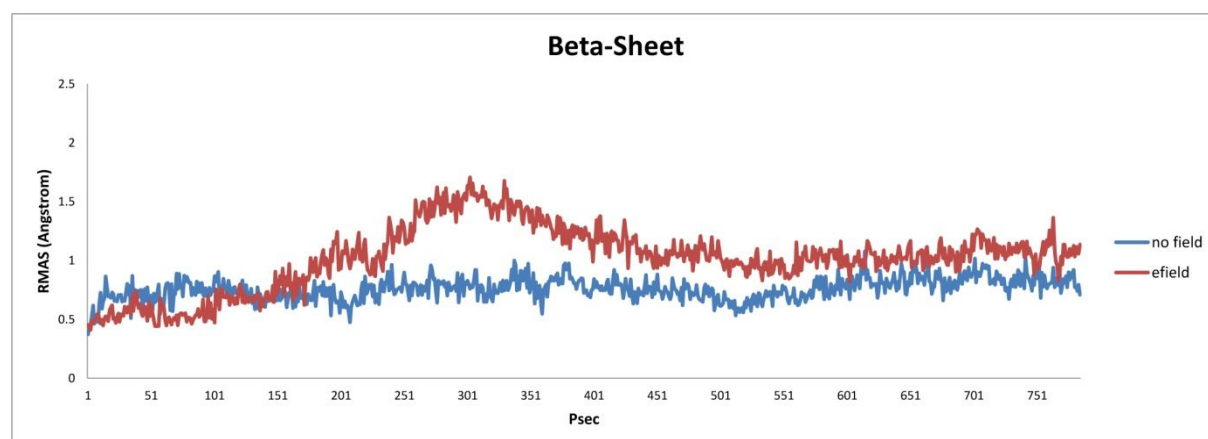
حاصل از همرديفي ساختار فايل هاي PDB

| | لحظات اول و مياني | لحظات اول و پاياني |
|----------|-------------------|--------------------|
| مارپيچ B | 1/62 Å | 0/97 Å |
| صفحه بتا | 2/13 Å | 1/74 Å |
| مارپيچ C | 2/01 Å | 1/27 Å |
| مارپيچ D | 2 Å | 1/37 Å |

باتوجه به جدول 1 در مورد مارپيچ B، مقدار RMSD حاصل از همرديفي ساختاري PDB لحظه ي اول و مياني از RMSD حاصل از همرديفي ساختاري لحظات اول و



شكل 6 الف: ساختار مارپيچ B در لحظه اول، ب: ساختار مارپيچ B در لحظه مياني، پ: ساختار مارپيچ B در لحظه پاياني، ت: همرديفي ساختاري مارپيچ B در لحظات اول، مياني و پاياني

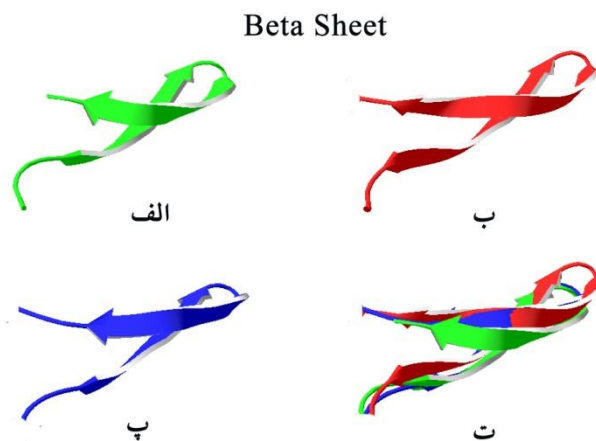


شكل 7 انحراف جذر ميانگين مربعات كربن آلفا پس از اعمال ميدان براي صفحه بتا در ساختار پروتئين تريمر درون غشاي ليپيدي به مدت 786 پيكوثانيه معادل يك تناوب سينيوسي

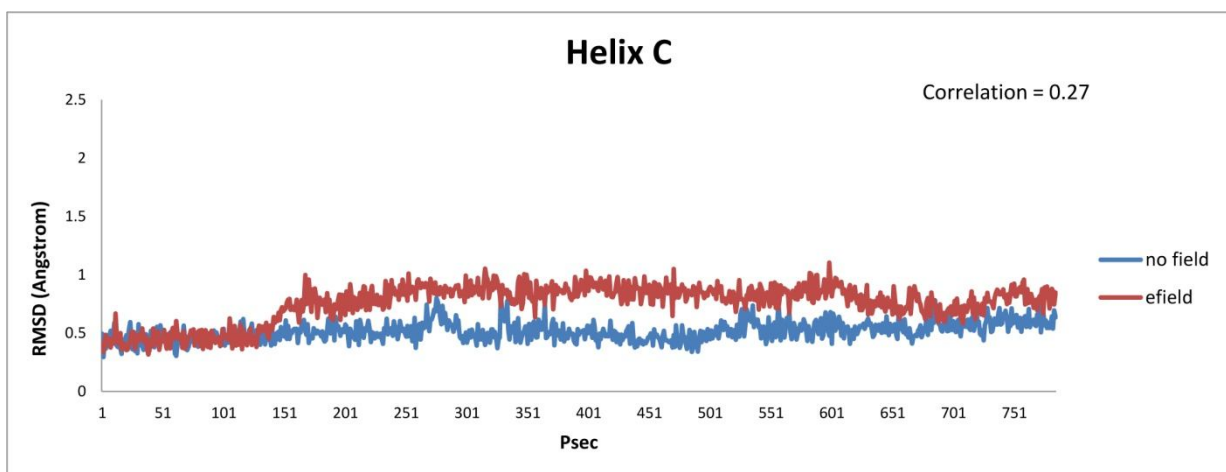
میزان تغییرات نسبت به مارپیچ‌های قبل و بعد محسوس‌تر بوده و همان‌طور که در شکل 7 نشان داده شده است، بیشینه تغییرات در بازه زمانی 235 تا 393 پیکوثانیه صورت گرفته است و مجدداً از لحظه 400 پیکوثانیه که تا انتهای شبیه‌سازی روند تغییرات RMSD به صورت یکنواخت در محدوده 1 آنگستروم ادامه می‌یابد. هم‌ردیفی ساختاری این ناحیه از پروتئین که در شکل 8 نشان داده شده است و همچنین مقادیر RMSD مربوط به آن که در جدول 1 بیان شده است نتایج بدست آمده را تأیید

می‌کند.

همان‌طور که در شکل 9 مشاهده می‌شود تغییرات RMSD این مارپیچ دارای قله پهنی است. ضریب همبستگی کم (0/27) بین مقادیر RMSD در دو حالت حضور و عدم حضور میدان تأییدکننده تفاوت ساختاری معنی دار مارپیچ C در دو حالت مذکور است. اعداد گزارش شده در جدول شماره 1 نیز نتایج بدست آمده را تأیید می‌کند و همچنین در شکل 10 می‌توان تغییرات برگشت پذیر بوجود آمده در این منطقه از ساختار پروتئین را مشاهده کرد.



شکل 8 هم‌ردیفی ساختاری صفحه بتا : الف: ساختار صفحه بتا در لحظه اول، ب: ساختار صفحه بتا در لحظه میانی، پ: ساختار صفحه بتا در لحظه پایانی، ت: هم‌ردیفی ساختاری صفحه بتا در لحظات اول، میانی و پایانی

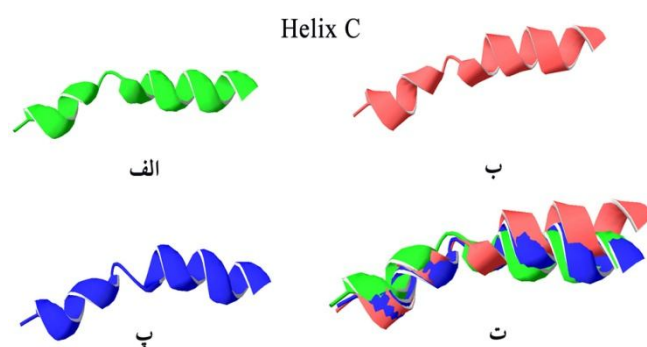


شکل 9 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پس از اعمال میدان بر مارپیچ C در ساختار پروتئین تریمر درون غشای لیپیدی به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی

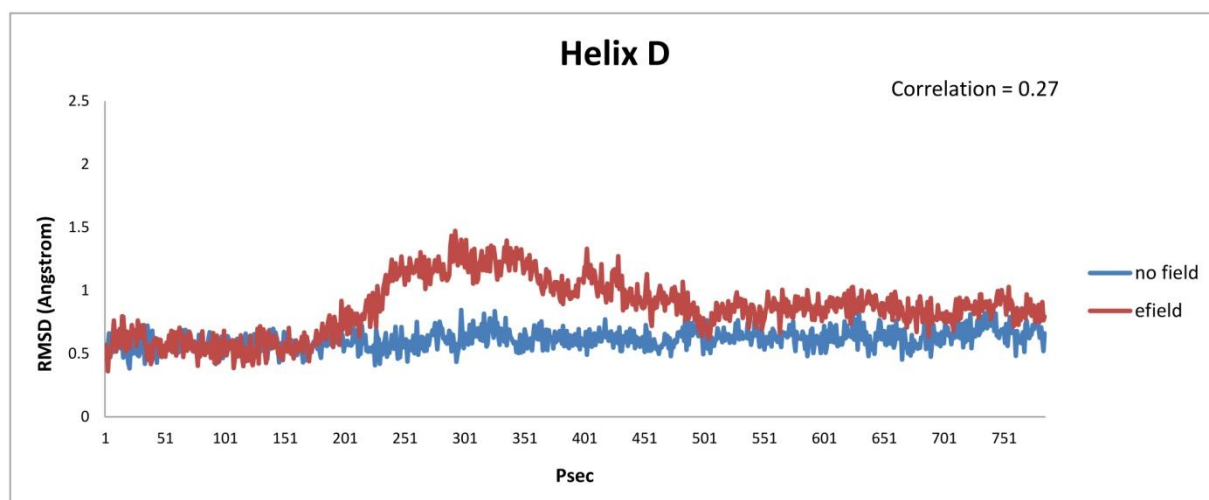
شکل 11 تغییرات RMSD مارپیچ D را پس از اعمال میدان نشان می‌دهد. در این شکل، قله‌ای دیده می‌شود که نسبت به مارپیچ‌های قبلی در مدت زمان کوتاهی به حالت اولیه باز می‌گردد. ضریب همبستگی تغییرات RMSD در دو حالت حضور و عدم حضور میدان 0/23 می‌باشد که نشان‌دهنده الگوی تغییرات متفاوت در این دو حالت است. بازگشت به حالت اولیه در مارپیچ C، 350 پیکوثانیه به طول می‌انجامد در حالی که در مارپیچ D بازگشت در محدوده 120 پیکوثانیه انجام می‌پذیرد. همچنین اعداد گزارش شده در جدول 1 و شکل 12 تفاوت الگوی تغییرات ساختاری مارپیچ D را تأیید

می‌کند.

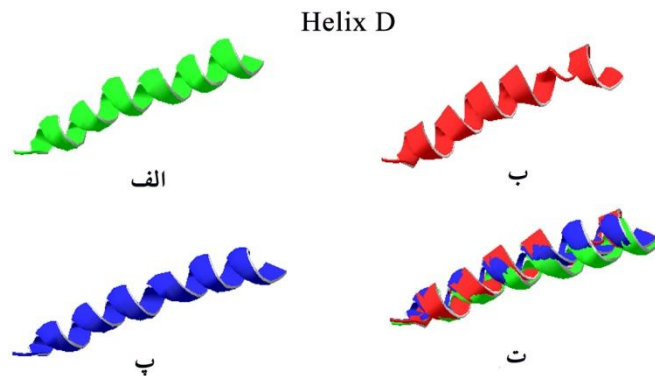
همان‌طور که در بخش یک شکل 13 دیده می‌شود نمودار RMSD مارپیچ E در حضور و عدم حضور میدان، روند تغییرات مشابهی را نشان می‌دهد. ضریب همبستگی بالا (0/6) تغییرات RMSD در دو حالت بدین معناست که تفاوت ساختاری قابل توجهی در هنگام اعمال میدان رخ نداده است. همچنین همبستگی بالای تغییرات RMSD مارپیچ‌های F و G در دو حالت حضور و عدم حضور میدان که برابر با 0/6 می‌باشد، مؤید بی‌تأثیر بودن میدان بر این دو مارپیچ بوده و مانند مارپیچ‌های A و E رفتار مشابهی را در دو حالت از خود نشان می‌دهد.



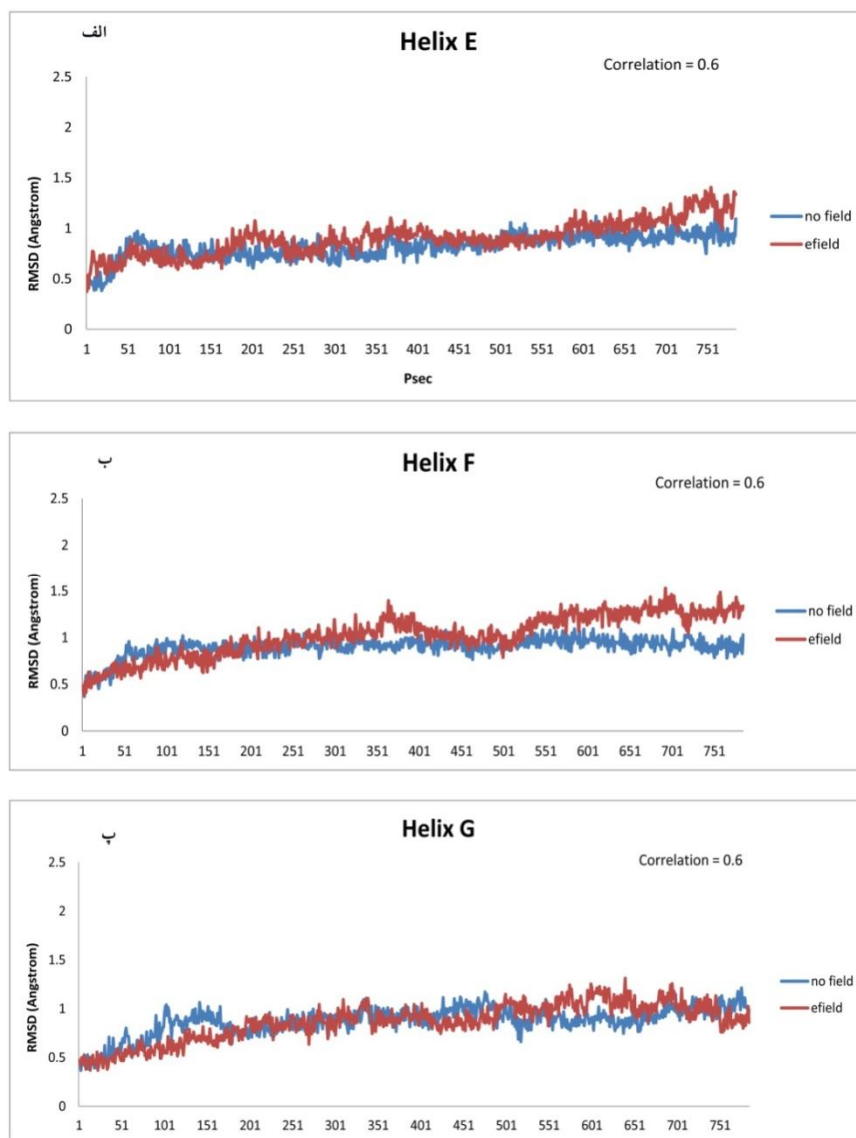
شکل 10 هم‌ردیفی ساختاری مارپیچ C: الف: ساختار مارپیچ C در لحظه اول، ب: ساختار مارپیچ C در لحظه میانی، پ: ساختار مارپیچ C در لحظه پایانی، ت: هم‌ردیفی ساختاری مارپیچ C در لحظات اول، میانی و پایانی



شکل 11 انحراف جذر میانگین مربعات کربن آلفا پس از اعمال میدان بر مارپیچ D در ساختار پروتئین تریمر درون غشای لیپیدی به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی



شکل 12 هم‌ردیفی ساختاری مارپیچ D: الف: ساختار مارپیچ D در لحظه اول، ب: ساختار مارپیچ D در لحظه میانی، پ: ساختار مارپیچ D در لحظه پایانی، ت: هم‌ردیفی ساختاری مارپیچ D در لحظات اول، میانی و پایانی



شکل 13 تغییرات ریشه میانگین مجذور انحراف کربن آلفا پس از اعمال میدان بر مارپیچ‌های E, F, G در ساختار پروتئین تریمر درون غشای لیپیدی به مدت 786 پیکوثانیه معادل یک تناوب سینوسی

گیگاهرتز لحاظ شد. هدف از انجام این تحقیق، در درجه اول بررسی تغییرات ساختاری پروتئین باکتیوردوپسین تحت تأثیر تابش امواج الکترومغناطیس و در مرتبه دوم نیز شناسایی مناطق مؤثر در جذب امواج میکروویو توسط این پروتئین می باشد. با توجه به نتایج تحقیقات پیشین در زمینه اعمال میدان الکتریکی خارجی در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی، کمیت RMSD می‌تواند معیار مناسبی برای بیان تغییرات اعمال شده در ساختار پس از تابش امواج باشد [27]. بر این اساس، در این تحقیق تأکید اصلی بر بررسی ساختار تریمر پروتئین باکتیوردوپسین از طریق کمیت RMSD بوده است. در مرحله بعد، کمیت RMSF اتم‌های کربن آلفا که نشان دهنده میزان انعطاف پذیری این اتم‌ها در ساختار هر اسیدآمین در طول زمان شبیه‌سازی است، مورد استفاده قرار گرفته است.

بررسی نمودار RMSD مربوط به پروتئین تریمر نشان می‌دهد که تأثیر امواج بر پروتئین باکتیوردوپسین در حد لایه ارتعاشی آن است و منجر به تغییرات ساختاری بسیار گسترده و شدید در پروتئین نشده است.

در پروتئینی که خاصیت جذب امواج را دارد انتظار می‌رود که تغییرات ساختاری مشاهده شود و الزاماً این تغییرات، برگشت‌پذیر نیز باشند تا فرایند جذب در طول زمان ادامه پیدا کند. نمودارهای تغییرات RMSD مربوط به هر کدام از مارپیچ‌ها و صفحه بتا در پروتئین باکتیوردوپسین که در بخش نتایج در مورد آن‌ها توضیح داده شد در بعضی از نقاط متحمل تغییرات ساختاری خفیف و برگشت‌پذیری می‌شود که این برگشت‌پذیری بدین معناست که پروتئین انرژی حاصل از اثر امواج الکترومغناطیس را به خود جذب کرده و متقابلاً به محیط بازگردانده است. در مارپیچ B میزان اختلاف بین ساختارهای اول و پایانی در مقایسه با ساختار در لحظات اول و میانی کمتر است که نشان‌دهنده برگشت‌پذیری ساختار به حالت اولیه می‌باشد. با توجه به خصوصیت

تحلیل داده‌های RMSF نتایج بدست آمده از مقایسه تغییرات ساختاری را مورد تأیید قرار می‌دهد. در RMSF محاسبه شده از پروتئین تریمر الگوی متفاوتی از جنبش اتمی و تغییرات ساختاری در دو حالت مورد نظر (بدون اعمال میدان و با اعمال میدان) مشاهده می‌شود که به نوبه خود نشان دهنده اثر پذیری این ساختار از اعمال میدان سینوسی است. در نمودار RMSF قله‌ها در اطراف اسید آمینه 69 مربوط به صفحه بتا و اسیدآمین‌های 149 تا 170 مربوط به مارپیچ D دیده می‌شود.

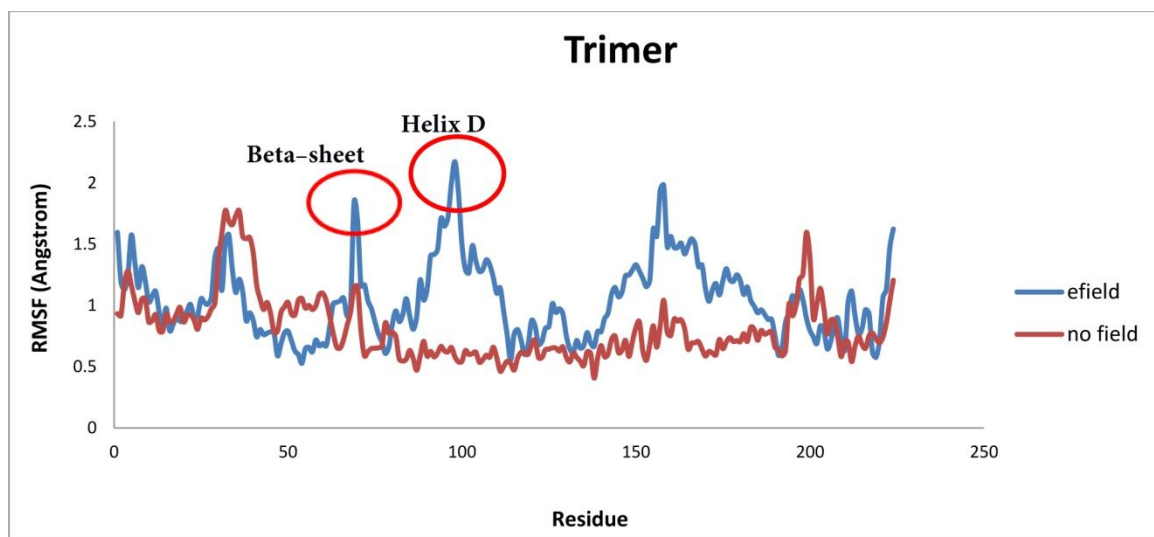
4- بحث

تأثیر امواج الکترومغناطیس بر ماکرومولکول‌های زیستی همانند پروتئین‌ها در حد ارتعاش است و نمی‌توان تغییرات ساختاری شدیدی را انتظار داشت. در تحقیقات پیشین این مسئله از نظر ترمودینامیکی بررسی شده است. براین اساس، انتشار گرمایی که تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس در پروتئین منتشر می‌شود لایه ارتعاشی پروتئین را درگیر می‌کند. گرمای تولید شده بر اثر امواج و تحت تأثیر متقابل محیط، منجر به برهم‌ریختگی‌های ساختاری در پروتئین می‌شود. بنابراین نمی‌توان انتظار داشت که برخورد امواج به پروتئین تغییرات کنفورماسیونی اساسی را در پروتئین ایجاد کند. تأثیرات ساختاری امواج میکروویو بر پروتئین‌ها را با توجه به میزان قدرت امواج می‌توان به سه گروه عمده تقسیم کرد؛ امواج با قدرت کم صرفاً می‌تواند باعث واسرشتگی جزئی در پروتئین شود اما اگر قدرت امواج زیاد باشد می‌تواند منجر به واسرشتگی بیشتر در پروتئین شود و در حالتی که قدرت امواج بسیار زیاد باشد، باعث تجمع مولکول‌های پروتئینی می‌شود [31].

با توجه به مطالب فوق و اینکه طیف امواج رادار در دامنه فرکانسی از 8 تا 20 گیگاهرتز قرار گرفته است؛ در تمامی محاسبات انجام شده برای اعمال میدان در شبیه‌سازی، زمان یک دور تناوبی موج سینوسی در محدوده 8

بودن زمان برگشت پذیری ساختار در نمودار RMSD می‌توان گفت که انرژی دریافت شده از محیط توسط مارپیچ D بیشتر از مارپیچ C است. به عنوان جمع‌بندی می‌توان گفت نقاطی که توسط جذب امواج متحمل تغییرات برگشت پذیر معناداری می‌شوند عبارتند از: صفحه بتا (اسید آمینه 63 تا 80)، مارپیچ D (اسید آمینه 100 تا 128) و مارپیچ C (اسید آمینه 80 تا 99) و مارپیچ B (اسید آمینه 38 تا 62). وجود این تغییرات ساختاری برگشت پذیر در این نقاط نشان دهنده آن است که این قطعات می‌توانند نقش مؤثر در جذب امواج راداری را داشته باشند. نتایج حاصل از نمودار RMSF نیز تأیید کننده نتایج مذکور است (شکل 14). لازم به ذکر است که این قطعات در ساختار پروتئین به شکل تریمر این خصوصیات را از خود بروز می‌دهند و مطالعات شبیه‌سازی نشان می‌دهد که قطعات به تنهایی فاقد خصوصیت تغییر ساختار برگشت پذیر می‌باشند و در نتیجه بصورت مستقل به عنوان جاذب امواج میکروویو عمل نمی‌کنند.

برگشت پذیری این مارپیچ، می‌توان آن را به عنوان گزینه‌ای برای جذب امواج در نظر گرفت. هماهنگی بین روند تغییرات و رفتار برگشت‌پذیر در ناحیه بتا با تغییرات شدت میدان اعمال شده نشان‌دهنده خصوصیت برگشت‌پذیری معنادار این ناحیه بوده و بدین معنا است که ساختار صفحه بتا، انرژی را از طریق اعمال میدان الکتریکی جذب کرده و سپس با برگرداندن انرژی به محیط به حالت قبل خود باز می‌گردد. با توجه به این شواهد، صفحه بتا می‌تواند به عنوان یکی از بهترین گزینه‌ها برای جذب امواج میکروویو مطرح باشد. در مارپیچ C نسبت به مارپیچ B و صفحه‌ی بتا برگشت ساختار به حالت اول در بازه زمانی دیرتری رخ می‌دهد که مبین آن است که ناحیه موردنظر انرژی جذب‌شده از میدان الکتریکی را به میزان بیشتری در خود نگه می‌دارد. بنابراین، این مارپیچ را می‌توان به عنوان یکی دیگر از گزینه‌های پیشنهادی برای مناطق مؤثر جذب امواج میکروویو توسط باکتریوردوپسین مطرح نمود. با توجه به افزایش رفتار برگشت پذیری در مارپیچ D و نیز کوتاه‌تر



شکل 14 تغییرات انحراف معیار مکان اتم کربن آلفا مربوط به ساختار پروتئین تریمر در طول زمان شبیه‌سازی. قله‌های منحنی نشان‌دهنده مناطقی است که در آنها اسیدهای آمینه انعطاف‌پذیری بیشتری داشته و یا به عبارت دیگر متحمل تغییرات ساختاری بیشتری شده‌اند.

5- منابع

- [12] Henzler-Wildman, K. and D. Kern, *Dynamic personalities of proteins*. Nature, 2007. 450(7172): pp. 964-972.
- [13] Jang, H., Crozier P.S., Stevens M.J., Woolf T.B., *How environment supports a state: molecular dynamics simulations of two states in bacteriorhodopsin suggest lipid and water compensation*. Biophysical journal, 2004. 87(1): pp. 129-145.
- [14] Kandt, C., J. Schlitter, and K. Gerwert, *Dynamics of water molecules in the bacteriorhodopsin trimer in explicit lipid/water environment*. Biophysical journal, 2004. 86(2): pp. 705-717.
- [15] Hayashi, S., E. Tajkhorshid, and K. Schulten, *Molecular dynamics simulation of bacteriorhodopsin's photoisomerization using ab initio forces for the excited chromophore*. Biophysical journal, 2003. 85(3): pp. 1440-1449.
- [16] Roux, B., et al., *Thermodynamic stability of water molecules in the bacteriorhodopsin proton channel: a molecular dynamics free energy perturbation study*. Biophysical journal, 1996. 71(2): p. 670.
- [17] Xu, D., C. Martin, and K. Schulten, *Molecular dynamics study of early picosecond events in the bacteriorhodopsin photocycle: dielectric response, vibrational cooling and the J, K intermediates*. Biophysical journal, 1996. 70(1): p. 453.
- [18] Edholm, O., O. Berger, and F. Jähnig, *Structure and fluctuations of bacteriorhodopsin in the purple membrane: a molecular dynamics study*. Journal of molecular biology, 1995. 250(1): pp. 94-111.
- [19] Subramaniam, S. and R. Henderson, *Molecular mechanism of vectorial proton translocation by bacteriorhodopsin*. Nature, 2000. 406(6796): pp. 653-657.
- [20] Humphrey, W., A. Dalke, and K. Schulten, *VMD: visual molecular dynamics*. Journal of molecular graphics, 1996. 14(1): pp. 33-38.
- [21] Phillips, J.C., et al., *Scalable molecular dynamics with NAMD*. Journal of computational chemistry, 2005. 26(16): pp. 1781-1802.
- [22] Sapay, N. and D.P. Tieleman, *Combination of the CHARMM27 force field with united-atom lipid force fields*. Journal of computational chemistry, 2011. 32(7): pp. 1400-1410.
- [1] Hampp, N. and D. Oesterhelt, *Bacteriorhodopsin and its potential in technical applications*. Protein Science Encyclopedia, 2005.
- [2] Melkikh, A. and V. Seleznev, *Model of active transport of ions in archaea cells*. Bulletin of mathematical biology, 2009, 71(2): pp. 383-398.
- [3] Bickel-Sandkötter, S., W. Gärtner, and M. Dane, *Conversion of energy in halobacteria: ATP synthesis and phototaxis*. Archives of microbiology, 1996. 166(1): pp. 1-11.
- [4] Whitmire, S., et al., *Protein flexibility and conformational state: A comparison of collective vibrational modes of wild-type and D96N bacteriorhodopsin*. Biophysical journal, 2003. 85(2): pp. 1269-1277.
- [5] Henderson, R. and P.N.T. Unwin, *Three-dimensional model of purple membrane obtained by electron microscopy*. Nature, 1975. 257(5521): pp. 28-32.
- [6] Peralvarez-Marin, A., E. Padrós i Morell, and E. Querol i Murillo, *Dynamic factors of bacteriorhodopsin: regulation key points in helices B, C and F*, 2005, Thesis: University Autònoma Barcelona, Spain.
- [7] Dencher, N.A. and M.P. Heyn, *Bacteriorhodopsin monomers pump protons*. FEBS letters, 1979. 108(2): pp. 307-310.
- [8] Luecke, H., Schobert, B., Richter, H.T., Cartailier, J.P., Lanyi, J. K., *Structural changes in bacteriorhodopsin during ion transport at 2 angstrom resolution*. Science, 1999. 286(5438): pp. 255-260.
- [9] Karplus, M., *Molecular dynamics simulations of proteins*. Physics Today, 2008. 40(10): pp. 68-72.
- [10] Gumbart, J., Wang, Y., Aksimentiev, A., Tajkhorshid, E., Schulten, K., *Molecular dynamics simulations of proteins in lipid bilayers*. Current opinion in structural biology, 2005. 15(4): pp. 423-431.
- [11] Birge, R.R., Robert R. Birge, Deshan S. K. Govender, K. Can Izgi and Eric H. L. Tan, *Role of calcium in the proton pump of bacteriorhodopsin. Microwave evidence for a cation-gated mechanism*. The Journal of Physical Chemistry, 1996. 100(23): pp. 9990-10004.

- diphenylalanine peptides in an external electric field*. Biophysical chemistry, 2015. 196: pp. 16-24.
- [28] Xie, Y., C. Liao, and J. Zhou, *Effects of external electric fields on lysozyme adsorption by molecular dynamics simulations*. Biophysical chemistry, 2013. 179: pp. 26-34.
- [29] Parviainen, S. and F. Djurabekova, *Molecular dynamics simulations of ion irradiation of a surface under an electric field*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2014. 339: pp. 63-66.
- [30] Guex, N. and M.C. Peitsch, *SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: an environment for comparative protein modeling*. electrophoresis, 1997. 18(15): pp. 2714-2723.
- [31] Laurence, J.A., French P.W., Lindner R.A., Mckenzie D.R., *Biological effects of electromagnetic fields-mechanisms for the effects of pulsed microwave radiation on protein conformation*. Journal of Theoretical Biology, 2000. 206(2): pp. 291-298.
- [23] Navapour, L., N. Mogharrab, and M. Amininasab, *How Modification of Accessible Lysines to Phenylalanine Modulates the Structural and Functional Properties of Horseradish Peroxidase: A Simulation Study*. PloS one, 2014. 9(10): p. e109062.
- [24] Al-Haik, M.S. and M.Y. Hussaini, *Molecular dynamics simulation of magnetic field induced orientation of nanotube-polymer composite*. Japanese journal of applied physics, 2006. 45(11R): p. 8984.
- [25] Chang, K.-T. and C.-I. Weng, *The effect of an external magnetic field on the structure of liquid water using molecular dynamics simulation*. Journal of Applied physics, 2006. 100(4): p. 043917.
- [26] Schilling, F.C., K.R. Amundson, and P. Sozzani, *Molecular motion of isolated polyethylene chains in the solid state*. Macromolecules, 1994. 27(22): pp. 6498-6502.
- [27] Kelly, C.M., Northey T., Ryan K., Brooks B.R., Kholkin A.L., Rodriguez B.J., Buchete N.V., *Conformational dynamics and aggregation behavior of piezoelectric*