

Supramolecular organization of visual pigment rhodopsin

The visual pigment rhodopsin is a prototypical member of the large family of G-protein coupled receptors (GPCR). GPCRs are known to form dimers or oligomers in membranes. However, for rhodopsin and all class A rhodopsin-like GPCRs, the functional role of rhodopsin dimers has not yet been established. The supramolecular organization of rhodopsin in photoreceptor membranes is currently the subject of heated debates.

As part of the investigation of the supramolecular organization of native photoreceptor membranes, small-angle neutron scattering with contrast variation and small-angle X-ray scattering experi-

ments were carried out. The use of two complementary methods allows us to make an assumption about the monomeric state of rhodopsin in the photoreceptor membrane.

It is known that the photoreceptor disc membrane is a two-component system consisting of approximately 40% lipids and 60% proteins, of which about 85% is rhodopsin. The experiments were performed with samples of photoreceptor discs (approximately 1 μm in diameter) isolated from outer segments and rod outer segments themselves from bovine retina. Small-angle neutron scattering experiments were carried out on the YuMO small-

angle neutron scattering spectrometer under dim red illumination.

Differences in scattering densities between lipids and proteins in the photoreceptor disc membrane made it possible to exclude the influence of the lipid matrix on the pattern of small-angle scattering from the membrane and to reveal structural information about the relative disposition of rhodopsin within the membrane. The use of a synchrotron X-ray source allowed improving the background conditions and the resolution of the obtained data. This information made it possible both to determine the parameters of the arrangement of rhodopsin inside the membrane and to show the presence of disc packing in the outer segments of photoreceptor cells. Also, the use of synchrotron-

based small-angle X-ray scattering made it possible to confirm the results obtained by the SANS method and to show that this arrangement of rhodopsin is retained not only in systems with isolated photoreceptor discs, but also in native rods of the photoreceptor membrane.

From the obtained data, it was shown that the packing density of rhodopsin molecules in the photoreceptor membrane is unusually high: the distance between the centers of the molecules is approximately 56 \AA [1, 2]. Taking into account the diameter of the molecule itself, the average distance between two neighboring rhodopsin molecules obtained from the results suggests the monomeric state of rhodopsin molecules.

Fig. 1
Schematic of supra-molecular organization of rhodopsin in photoreceptor membranes.

Рис. 1
Схема супра-молекулярной организации родопсина в фото-рецепторных мембранах.

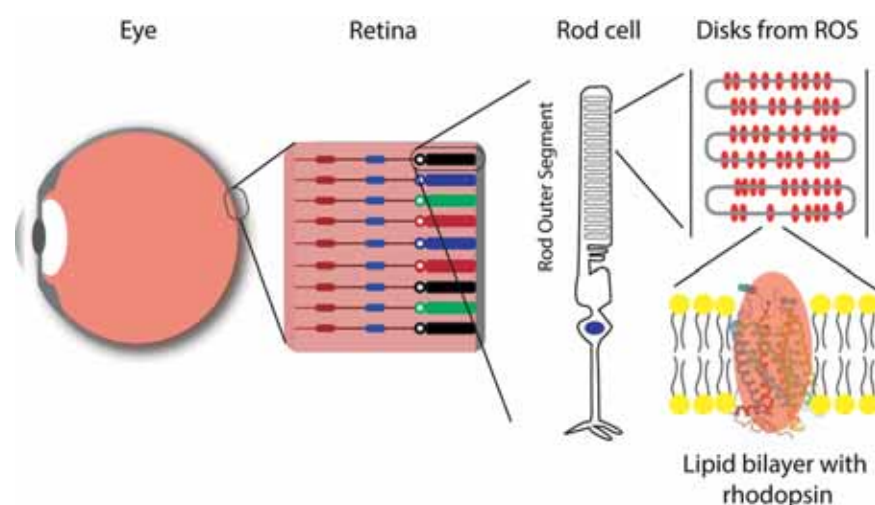
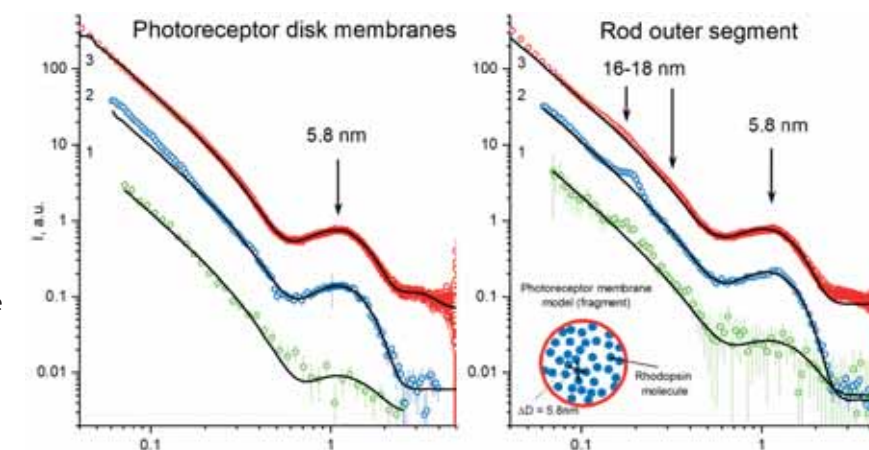


Fig. 2
SANS curves revealing the organization of rhodopsin inside the photoreceptor membrane.

Рис. 2
Кривые МУРН, раскрывающие организацию родопсина в фоторецепторной мембране.



Супрамолекулярная организация зрительного пигмента родопсина

Зрительный пигмент родопсин является типичным представителем огромного семейства рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR). GPCR в мембране функционируют в димерном или олигомерном состоянии. Однако, для родопсина и всего класса A родопсин-подобных GPCR функциональная роль димерного состояния до сих пор не установлена. Супрамолекулярная организация родопсина в фоторецепторных мембранах является в настоящее время предметом острой дискуссии.

В рамках исследования супрамолекулярной организации фоторецепторной мембраны в нативных условиях в ЛНФ были проведены экспе-

рименты методами малоуглового рассеяния нейтронов с вариацией контраста и малоуглового рассеяния рентгеновских лучей. Использование двух комплементарных методов позволяет сделать предположение о мономерном состоянии родопсина в фоторецепторной мембране.

Известно, что мембрана фоторецепторного диска представляет собой двухкомпонентную систему, которая включает в себя примерно 40% липидов и 60% белков, из которых около 85% приходится на долю родопсина. Для проведения экспериментов были получены образцы фоторецепторных дисков (примерно 1 μm в диаметре) из наружных сегментов и непосредственно на-

ружные сегменты фоторецепторных клеток сетчатки быка. Эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов были проведены на спектрометре малоуглового рассеяния нейтронов ЮМО при низкой интенсивности красного света.

Различия в плотности рассеяния нейтронов между белками и липидами в мембране фоторецепторного диска позволило исключить влияние липидного матрикса на картину малоуглового рассеяния от мембраны и выявить структурную информацию о расположении родопсина внутри мембраны. Использование синхротронного источника рентгеновского излучения позволило улучшить фоновые условия и разрешение полученных данных. Данная информация позволила определить как параметры расположения родопсина внутри мембраны, так и показать наличие упаковки дисков в наружных сегментах

фоторецепторных клеток. Также использование метода малоуглового рассеяния рентгеновских лучей с использованием синхротронного источника позволило подтвердить результаты, полученные методом МУРН и показать, что такое расположение родопсинов сохраняется не только на системах с выделенными фоторецепторными дисками, но и в неразрушенных палочках фоторецепторной мембраны.

Из данных было показано, что плотность упаковки молекул родопсина в фоторецепторной мембране необычайно высока: расстояние между центрами молекул составляет примерно 56 \AA [1, 2]. Принимая во внимание диаметр самой молекулы, среднее расстояние между двумя молекулами родопсина, полученное из результатов, свидетельствует о мономерном состоянии молекул родопсина.