

УДК 577.32

ЭФФЕКТЫ МЕЖИОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ФУНКЦИОНИРОВАНИИ И ИНГИБИРОВАНИИ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ

К.В. Шайтан, О.С. Соколова, А.К. Шайтан, М.А. Касимова,
В.Н. Новоселецкий, М.П. Кирпичников

(кафедра биоинженерии; e-mail: k.v.shaitan@molsim.org)

Методами молекулярной динамики с использованием суперкомпьютера МГУ “Ломоносов” исследована ионная проводимость потенциал-зависимого калиевого канала KcsA в полнотомной модели на субмикросекундных временах. Использовалась структура KcsA в открытом состоянии, полученная методом рентгеноструктурного анализа (pdb код 3fb7). Показано, что при физиологических условиях проводимость канала осуществляется по кооперативному механизму и наиболее вероятным является прохождение “пачки” из трех ионов калия. Исследовано также взаимодействие гомологичного ионного канала Kv1.2 с нейротоксином. Показано, что межйонное взаимодействие относительно мало влияет на связывание канала с токсином.

Ключевые слова: потенциал-зависимые калиевые каналы, нейротоксин, молекулярная динамика, межйонные взаимодействия.

Потенциал-зависимые калиевые каналы (Kv) представляют собой наиболее обширную и разнообразную группу ионных каналов. Они играют ключевую роль в функционировании возбудимых клеток и важны в качестве мишеней для лекарственных агентов при различных заболеваниях и наследственных расстройствах. В связи со значимостью этой части протеомики для биомедицины большое значение имеет развитие фундаментальных представлений о структуре ионных каналов, механизмах их функционирования и взаимодействия с лигандами/блокаторами. Современные методы молекулярного моделирования [1] с использованием суперкомпьютерных технологий позволяют получить количественные данные о динамике ионных каналов и процессов ионного транспорта (величина проводимости и ее зависимость от внешних условий [2], зависимость свободной энергии иона от его положения в канале [3], структурные и энергетические характеристики стадий прохождения ионов через селективный фильтр (СФ) канала [2, 4], эффекты ион-ионных взаимодействий в канале и т.д.).

Учитывая высокую степень гомологии, можно ожидать, что основные закономерности связывания лигандов и механизмы ионного транспорта сходны у всей группы Kv каналов, включая эукариотические [5] и прокариотические [6]. Специфика функционирования ионных каналов заключается в обеспечении достаточно тонкого баланса электростатических взаимодействий между заряженными группами белка, ионами и диполями воды. В статье методами молекулярной динамики изучается функционирование канала на примере бактериального калие-

вого канала KcsA и роль межйонных взаимодействий в динамике прохождения ионов через пору канала, а также роль электростатических сил при взаимодействии эукариотического калиевого канала Kv1.2 с блокатором (аджитоксином) в растворах с различной ионной силой.

Методы

Моделирование динамики ионного транспорта в потенциал-зависимых калиевых каналах проводилось на примере бактериального канала KcsA. Для создания молекулярно-динамической модели KcsA использовалась структура в открытом состоянии, полученная недавно методом рентгеноструктурного анализа (pdb код 3fb7) [7]. Разрешение структуры составляет 0,33 нм, радиус поры на уровне ворот канала — 0,5 нм (радиус поры определялся с помощью программы HOLE [8]). СФ и полость перед СФ были заполнены ионами калия и молекулами воды. В полученной структуре два иона были расположены в S4 и S2 сайтах, один ион находится в полости канала в Scav сайте, молекулы воды были расположены в S3 и S1 сайтах. Для моделирования KcsA использовали силовое поле AMBER03 [9]. Ионизируемые остатки KcsA были взяты в соответствии с их стандартным состоянием при pH = 7, за исключением E71. Этот остаток был также взят в протонированной форме. Протонированный E71 образует водородные связи, которые участвуют в поддержании структуры СФ канала [10].

Модель фосфолипидной мембраны была построена на основе дипальмитоилфосфатидилхолина

(ДПФХ) [3, 10]. Размер расчетной ячейки составлял $9 \times 9 \times 10$ нм. Для моделирования мембраны использовали тяжелоатомное приближение. Параметры силового поля и формулы для описания динамики торсионных углов были взяты в соответствии с [11]. Белок встраивали в отрелаксированный фосфолипидный бислой с помощью программы G_MEMBED пакета GROMACS [12]. Применялась ступенчатая релаксация собранной молекулярной системы. На первом этапе реализовывался режим ланжевендовской динамики (программный пакет AMBER [13]) при условии ограниченной подвижности белка и ионов. В начальный период релаксации центр масс молекулы белка и ионы калия внутри СФ фиксировали упругим потенциалом с константой жесткости $0,1$ ккал/(моль $\cdot$ нм²). Длина траектории в начальном режиме релаксации составляла 2 нс в соответствии с рекомендациями [12]. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовался метод PME с радиусом обрезания в прямом пространстве 1 нм. Ячейку с калиевым каналом, мембраной и водой заполняли дополнительно ионами калия и хлора до концентраций 150 мМ и 70 мМ. Далее белок освобождали и проводили релаксацию в течение 10 нс при тех же значениях остальных параметров.

Для моделирования процесса проведения ионов через калиевый канал под действием трансмембранного потенциала использовали программный пакет NAMD [14]. Моделировались системы при шести значениях напряженности трансмембранного электрического поля 1,500, 2,250, 3,000, 3,750, 4,500 и 6,000 ккал/моль/нм/е соответственно при концентрациях соли калия 70 и 150 мМ. Длина траектории молекулярной динамики составляла 100 нс для каждого значения напряженности внешнего поля и концентрации соли калия. Параметры протокола расчета выбирались аналогично использованным при заключительной стадии релаксации мембраны.

Для создания молекулярно-динамической модели комплекса канала Kv1.2 с блокатором [15] использовали открытое состояние структуры калиевого канала Kv1.2 (pdb код 2a79) [16] и структура аджитоксина (pdb код 1agt) [17]. Поскольку в образовании поры канала и связывании с токсином принимают участие только сегменты S5 и S6, то сегменты S1–S4 были удалены для упрощения расчетов. Стартовые конфигурации комплексов токсина с каналами конструировали вручную с использованием молекулярного редактора Maestro [18]. Начальное положение токсина относительно канала было выбрано аналогично работе [19]. Для исключения перекрытия ионов, присутствующих в структуре канала, с молекулой токсина из полости канала были удалены два иона калия (в положениях S_0 и S_1). Остальные ионы калия (S_2 , S_3 , S_4 и S_{cav}) оставлены без изменения.

Комплекс канал—токсин помещали в липидный бислой, состоящий из 288 молекул пальмитоилфосфатидилхолина [20]. Далее оставшийся объем расчет-

ной ячейки заполняли молекулами воды и ионами. В расчетной ячейке объемом $9,62 \times 9,62 \times 10,0$ нм³ находился 1 комплекс канала с токсином, около 210 молекул липидов, порядка 13 500 молекул воды и достаточное число ионов натрия и хлора, необходимых как для компенсации заряда белка, так и для создания ионной силы раствора.

Расчеты молекулярной динамики выполнялись с использованием программного пакета GROMACS 4.0 в тяжелоатомном силовом поле ffG43a2 [21]. Шаг интегрирования составлял 2 фс. В результате расчетов были получены динамические траектории длиной 5 нс при температуре 300°C. Расчет характеристик систем проводили встроенными функциями программы GROMACS. Для визуализации молекулярных структур и расчета электростатического потенциала использовали программу VMD [22]. Расчет парциальных зарядов на атомах был выполнен с помощью веб-интерфейса к программе PDB2PQR [23].

Результаты и обсуждение

Моделирование динамики ионного транспорта через СФ канала KcsA проводилось в условиях, приближенных к физиологическим. Среднеквадратичное отклонение (СКО) рассматриваемой структуры от стартовой выходит на плато за время порядка 4 нс. Причем максимальное значение СКО лежит в пределах среднего значения СКО, характерного для мембранных белков (0,20 нм), и составляет 0,17 нм, что свидетельствует о стабильности разработанной модели канала. Цитоплазматическая часть канала в используемой нами для моделирования структуре отсутствовала. Однако результаты моделирования показывают, что частичное разрушение вторичной структуры на С-терминальных участках не сказывается на величине среднего диаметра поры на уровне ворот канала (0,50 нм). Для оптимизации расчетной процедуры торсионные углы основной цепи селективного фильтра (СФ) фиксировали упругим потенциалом с константой жесткости $1,5$ ккал/(моль $\cdot$ рад²) (СКО торсионного угла равно 51°) в соответствии с рекомендациями, сформулированными в [4]. Данную модель использовали в дальнейших расчетах.

Транспорт ионов калия через KcsA. Вольт-амперная характеристика калиевого канала. В результате теплового движения во внешнем электрическом поле ионы калия проходят через пору канала в направлении более низких значений потенциала. Процесс проникновения через канал начинается с вхождения иона калия в область ворот канала. Далее попавший в полость канала ион входит в преддверие СФ. При относительно высоких значениях напряженности электрического поля в СФ находятся два иона калия, разделенные молекулами воды: ионы калия расположены в S_4 и S_2 сайтах, молекулы воды расположены в S_3 и S_1 сайтах. Под действием внешнего поля ион проталкивает ряд из ионов калия и молекул воды, находящихся в СФ, по направлению

к внешней среде. При этом в СФ сначала входит молекула воды из полости канала, а затем ион калия. В переходном состоянии два иона калия расположены в S_3 и S_1 сайтах (причем один ион калия при входе в СФ), две молекулы воды расположены в S_4 и S_2 сайтах. При входе в СФ ион калия теряет гидратную оболочку за исключением двух молекул воды, расположенных сверху и снизу иона. Энергия дегидратации иона компенсируется энергией связывания иона с карбонильными атомами кислорода, расположенными в вершинах кубической антипризмы и образующими аналог сольватной оболочки. На этом этапе уже три иона калия расположены в S_4 , S_2 и S_0 сайтах, а две молекулы воды — в S_3 и S_1 сайтах. Ион калия из S_0 сайта восстанавливает гидратную оболочку и уходит в раствор. В полость канала из цитоплазмы входит другой ион калия, и цикл повторяется. Полученный в результате моделирования механизм ионного транспорта находится в согласии с механизмом, известным из литературных данных [2–4].

Вольт-амперные характеристики KcsA для 70 и 150 мМ концентрации KCl носят S-образный характер (рис. 1). В окрестности 150 мВ имеется точка перегиба, где сила тока возрастает более резко. Выше 300 мВ зависимость выходит на плато. Отметим, что S-образная форма вольтамперной характеристики обусловлена изменением характера прохождения ионов калия через СФ канала. При высоких напряжениях ионы проходят через СФ канала согласно механизму, описанному выше. При уменьшении напряженности внешнего поля механизм прохождения ионов меняется: молекулы воды не входят в СФ, а ионы калия, находящиеся в СФ, не разделены сайтом связывания. На уровне СФ могут находиться более двух ионов калия одновременно. Сила тока при этом резко уменьшается.

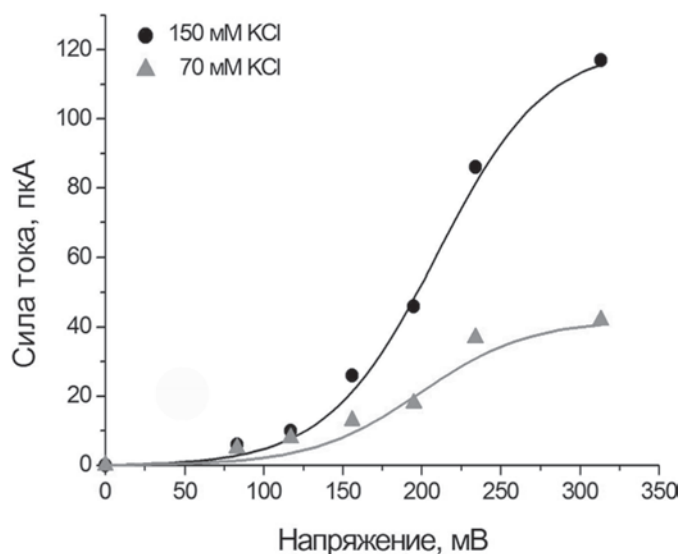


Рис. 1. Вольт-амперная характеристика KcsA в двух системах с концентрацией соли калия: 150 мМ (кружки) и 70 мМ (треугольники)

Таким образом, ион калия с некоторой вероятностью может входить в СФ, не пропуская перед собой молекулу воды. Вероятность этого события увеличивается при уменьшении напряжения на СФ. Можно ожидать, что входящие таким образом ионы блокируют KcsA на некоторое время, что и приводит к уменьшению силы тока. Гипотеза об инактивации KcsA ионами калия, входящими из раствора, высказывалась ранее также в [24].

Максимальные значения силы тока, предсказываемые молекулярной динамикой, превышают экспериментальные значения в 4–5 раз [25]. Выход на плато экспериментальных вольт-амперных характеристик происходит при более высоких напряжениях (около 400 мВ). Заметим, что для насыщающего напряжения сила тока через канал будет ограничиваться концентрацией соли калия в растворе и значением коэффициента диффузии в воде. Данные расхождения могут быть обусловлены недостатками модели воды TIP3P.

Профили свободной энергии для ионов калия в канале. Особый интерес для понимания механизма ионного транспорта представляет определение профилей свободной энергии одного и нескольких ионов калия в СФ канала.

Наблюдаемый профиль свободной энергии для одного иона калия в канале (рис. 2, А) четко обозначает четыре сайта связывания, один из которых находится на уровне водной полости канала и соответствует S_{cav} сайту, два — на уровне СФ, соответствуют S_3 и S_2 сайтам, и один — во внешней среде, соответствует S_{ext} . Высота барьера для выхода из сайта в водной полости составляет 3,3 ккал/моль, для выхода из S_3 на уровне СФ — 4,0 ккал/моль и 61,9 ккал/моль для выхода из S_2 , во внешней среде — 3,6 ккал/моль. Таким образом, вероятность того, что ион за расчетное время сможет покинуть СФ, преодолев барьер, высота которого более 100 кТ, очень мала. В связи с этим можно заключить, что попавший в СФ ион калия остается в канале до изменения внешних условий: вхождения дополнительных ионов в полость из цитоплазмы или появления мощного внешнего поля. Отметим, что канал KcsA всегда заполнен ионами калия, и для эффективного проведения ионов через СФ необходимо, чтобы они двигались не по одному, а “пачками” по два и более иона (в англоязычной литературе такое движение ионов описывается термином “single file mechanism”).

На профиле свободной энергии для триплета ионов калия на уровне СФ (рис. 2, Б) обнаруживается переход между двумя состояниями СФ: два иона калия находятся в сайтах S_3 и S_1 , один ион калия — при входе в СФ; три иона калия находятся в сайтах S_4 , S_2 и S_0 . Высота энергетического барьера для перехода между двумя состояниями уменьшается с возрастанием напряжения на СФ: 9,6, 5,9 и 4,5 ккал/моль при 0 мВ, 80 и 150 мВ соответственно. При отсутствии внешнего поля триплету ионов необходимо

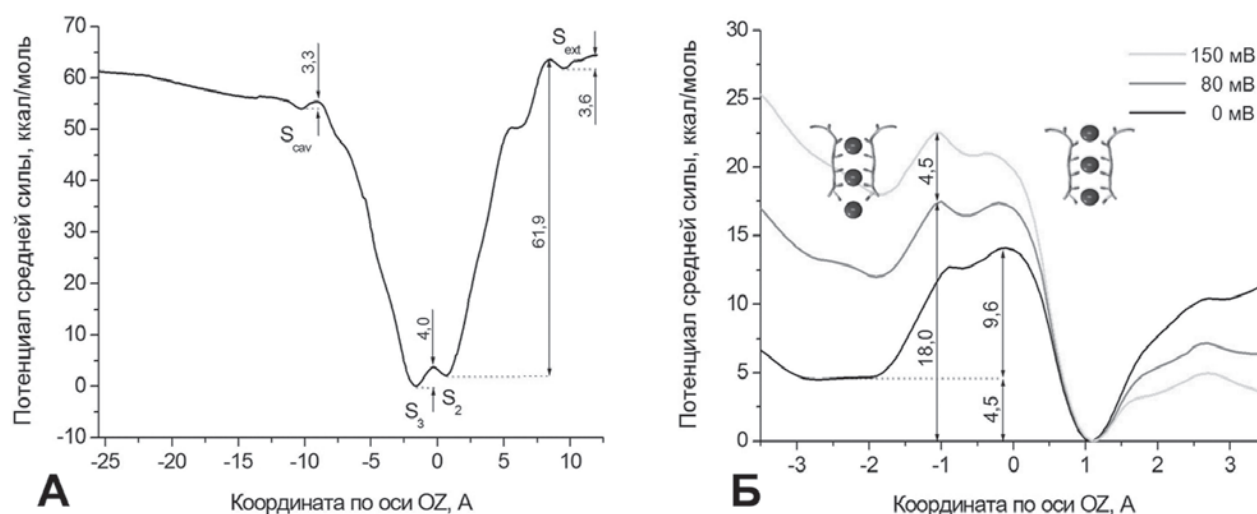


Рис. 2. Профили потенциала средней силы для: (А) одного иона калия в СФ. S_{cav} , S_3 , S_2 , S_{ext} — сайты связывания для иона калия в KcsA.; (Б) триплета ионов в СФ. Верхняя кривая соответствует напряжению на СФ 150 мВ, средняя — 80 мВ, нижняя соответствует системе без внешнего поля. Цифрами обозначены энергетические барьеры для продвижения иона калия вдоль поры канала. Слева находятся ворота канала, справа находится СФ

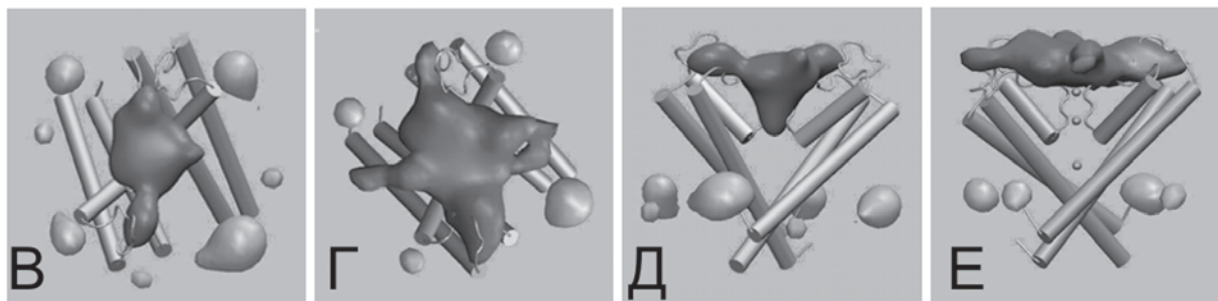
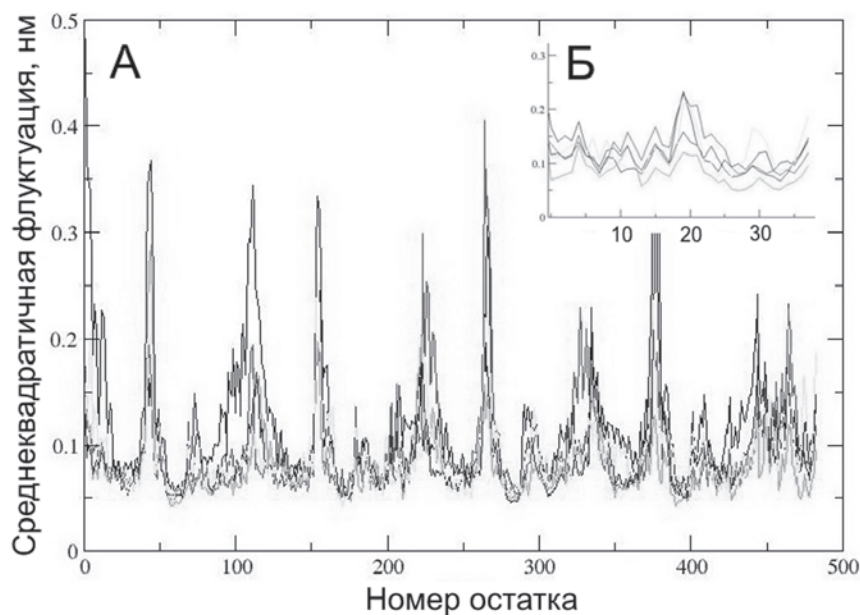


Рис. 3. Среднеквадратичные флуктуации положения Са-атомов в комплексе белок—токсин. (А) По оси абсцисс отложен номер Са-атома (номер остатка), по оси ординат — его флуктуации. Токсину соответствуют номера с 445 по 482. (Б) Флуктуации атомов токсина. Остаток лизина, играющий ключевую роль в связывании, имеет номер 27. (В—Е) Эквипотенциальные поверхности электростатического потенциала, канала Kv1.2 без ионов калия (В, Д) и при наличии 6 ионов в поре и селективном фильтре (Г, Е) (ионы показаны шариками). Вид с внеклеточной стороны (В, Г) и в плоскости мембраны (Д, Е). Для наглядности изображены только две субъединицы канала из четырех. Изоповерхности проведены для значений потенциала, равных 0,8 MIN + 0,2 MAX (отрицательный потенциал, показан темным) и 0,2 MIN + 0,8 MAX (положительный потенциал, показан светлым)

преодолеть барьер в 16 кТ. Это примерно в шесть раз меньше, чем максимальная высота барьера для единичного иона. При напряжении 150 мВ высота барьера для триплета ионов уменьшается до 7,5 кТ. Таким образом, проход ионов через СФ “пачками” по три (“single file mechanism”) представляется значительно более вероятным, чем проведение единичного иона.

Взаимодействие эукариотических потенциал-зависимых каналов с блокатором. В данном разделе изучалось влияние межионных взаимодействий в поровой области (включающей сегменты S5 и S6) эукариотического ионного канала Kv1.2 на образование его комплекса с блокатором (нейротоксином). Структура поровой области этого канала гомологична структуре рассмотренного выше бактериального канала KcsA.

В результате анализа действия растворов с различной ионной силой было обнаружено, что подвижность остатков комплекса определяется исключительно типом вторичной структуры, а изменение ионной силы раствора не оказывает заметного воздействия ни на подвижность остатков, расположенных в толще бислоя, ни на остатки, находящиеся в водном окружении (рис. 3, А). Отметим, что остаток лизина, играющий ключевую роль во взаимодействии с атомами кислорода основной цепи остатков, входящих в СФ канала (Y445, G444), демонстрирует меньшую подвижность (рис. 3, Б) во всем диапазоне рассмотренных значений ионной силы [26]. По нашим данным, в результате флуктуаций боковая цепь лизина выходит из поры СФ. Этот результат отличается от [19], в котором боковая цепь лизина оставалась в поре на всей траектории МД. По-видимому, это вызвано тем, что ион калия в модели [19] был удален, тогда как в нашей модели ион K^+ оставался в положении S2 и имелось электростатическое отталкивание между ним и положительно заряженным атомом азота боковой цепи лизина K27. Следует отметить, что вдоль всей траектории наблюдался плотный контакт между токсином и каналом. При этом большая часть контактов, показанных ранее в работе [19], сохраняется.

Для оценки влияния присутствия ионов калия в СФ и центральной поре на связывание с аджитоксином строили картины распределения электростатического потенциала, создаваемого молекулой канала в окружающем пространстве в присутствии и при отсутствии ионов калия (рис. 3, В–Е). В присутствии ионов калия область высокого отрицательного потенциала вытесняется из СФ и расширяется на всю поверхность канала (рис. 3, Д). В то же время область высокого положительного потенциала смещается с положительно заряженных остатков периферии канала на ионы калия в центральной поре (рис. 3, Е). Таким образом, заполнение канала ионами калия, по-видимому, уменьшает неселективное сродство положительно заряженного токсина и сайта связывания, которое проявляется на больших рассто-

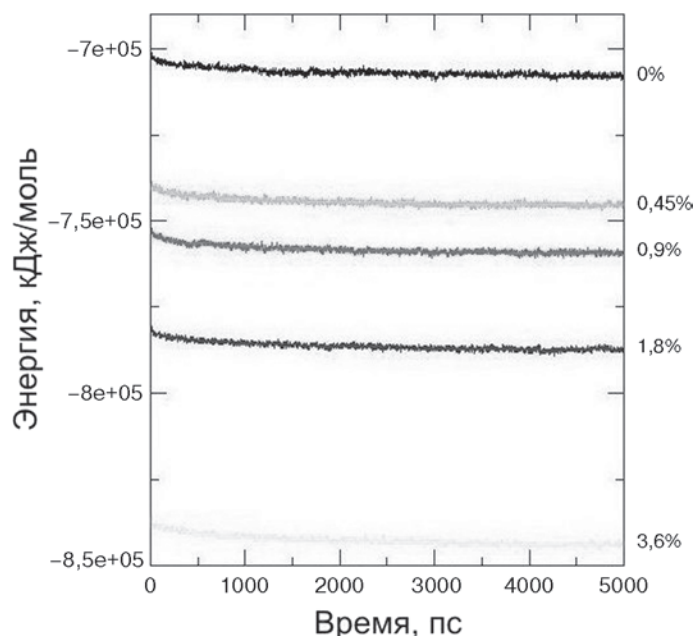


Рис. 4. Изменение общей энергии в изучаемых системах канал–токсин. Влияние ионной силы раствора

яниях. В то же время на малых расстояниях, когда токсин и сайт связывания оказываются в непосредственном контакте, основную роль играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия.

Отметим, что суммарная энергия систем закономерно возрастает по абсолютной величине с увеличением ионной силы (рис. 4), что обусловлено простым увеличением вклада в нее кулоновских взаимодействий между ионами в растворе. При этом энергия кулоновского взаимодействия между белковыми субъединицами, в том числе и между токсином и каналом, изменяется незначительно (рис. 4).

Выводы

В статье разработана полноатомная молекулярно-динамическая модель функционирования бактериального потенциал-зависимого калиевого канала KcsA, основанная на последних кристаллографических данных о структуре канала в открытом состоянии. Изучение динамики прохождения ионов через канал показало критическую роль ион-ионных взаимодействий в канале для обеспечения проводимости. Рассчитанные профили свободной энергии для одного иона и “пачки” ионов калия в канале однозначно свидетельствуют в пользу преобладания ионного тока по кооперативному механизму (“single file mechanism”). Рассчитанные вольт-амперные характеристики канала находятся в полуколичественном согласии с экспериментом.

Изучение молекулярной динамики комплекса Kv канала с токсином показало стабильность предложенной модели, при этом данные о межмолекулярных контактах токсина с аминокислотными остатками канала находятся в согласии с экспериментом. Анализ

изменения энергии взаимодействия в рамках рассматриваемой модели приводит к выводу, что ионная сила раствора слабо влияет на связывание блокатора с каналами Kv. Полученные данные следует учитывать при оценке сродства различных лигандов к каналам и их мутантам.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке Седьмой рамочной программы Евросоюза (программа EDICT, № 201924), Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-01182-а) и Минобрнауки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Domene C. Molecular dynamics simulations of potassium channels // Central European J. of Chemistry 2007. Vol. 5. P. 635—671.
2. Jensen M., Borhani D., Lindorff-Larsen K., Maragakis P., Jogini V., Eastwood M., Dror R., Shaw D. Principles of conduction and hydrophobic gating in K⁺ channels // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010. Vol. 107. P. 5833—5838.
3. Berneche S., Roux B. Energetics of ion conduction through the K⁺ channel // Nature. 2001. Vol. 414. P. 73—77.
4. Khalili-Araghi F., Tajkhorshid E., Schulten K. Dynamics of K⁺ Ion Conduction through Kv1.2 // Biophys. J. 2006. Vol. 91. P. L72—L74.
5. Соколова О.С., Шайтан К.В., Гризель А.В., Попина А.В., Карлова М.Г., Кирпичников М.П. Трехмерная структура потенциал-зависимого человеческого канала Kv10.2 по данным электронной микроскопии макромолекул и молекулярного моделирования // Биоорганическая химия. 2012. Т. 38, № 2. С. 1—8.
6. Boiteux C., Kraszewski S., Ramseyer C., Girardet C. Ion conductance vs. pore gating and selectivity in KcsA channel: Modeling achievements and perspectives // J. Molecular Mod. 2007. Vol. 13. P. 699—713.
7. Cuello L., Jogini V., Cortes M., Perozo E. Structural mechanism of C-type inactivation in K⁺ channels // Nature. 2010. Vol. 466. P. 203—208.
8. Smart O., Neduvilil J., Wang X., Wallace B., Sansom M. HOLE: A program for the analysis of the pore dimensions of ion channel structural models // J. of Molecular Graphics. 1996. Vol. 14. P. 354—360.
9. Duan Y., Wu C., Chowdhury S., Lee M., Xiong G., Zhang W., Yang R., Cieplak P., Luo R., Lee T., Caldwell J., Wang J., Kollman P. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations // J. Comput. Chem. 2003. Vol. 24. P. 1999—2012.
10. Miloshevsky G., Jordan P. Conformational Changes in the Selectivity Filter of the Open-State KcsA Channel: An Energy Minimization Study // Biophys. J. 2008. Vol. 95. P. 3239—3251.
11. Berger O., Edholm O., Jähnig F. Molecular dynamics simulations of a fluid bilayer of dipalmitoylphosphatidylcholine at full hydration, constant pressure, and constant temperature // Biophys. J. 1997. Vol. 72. P. 2002—2013.
12. Wolf M.G., Hoefling M., Aponte-Santamaría C., Grubmüller H., Groenhof G. g_membed: Efficient insertion of a membrane protein into an equilibrated lipid bilayer with minimal perturbation // J. Comput. Chem. 2010. Vol. 31. P. 2169—2174.
13. Case D., Cheatham T., Darden T., Gohlke H., Luo R., Merz K., Onufriev A., Simmerling C., Wang B., Woods R. The Amber biomolecular simulation programs // J. Comput. Chem. 2005. Vol. 26. P. 1668—1688.
14. Phillips J., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R., Kalé L., Schulten K. Scalable molecular dynamics with NAMD // J. Comput. Chem. 2005. Vol. 26. P. 1781—1802.
15. Karlova M.G., Piscshalnikova A.V., Ramonova A.A., Moiseyevich M.M., Sokolova O.S., Shaitan K.V. In vitro fluorescence assay to study the folding of Kv ion channels // Biophysics (Moscow). 2011. Vol. 56. N 2. P. 272—279.
16. Long S.B., Campbell E.B., Mackinnon R. Crystal Structure of a Mammalian Voltage-Dependent Shaker Family K⁺ Channel // Science. 2005. Vol. 309. P. 897—903.
17. Krezel A.M., Kasibhatla C., Hidalgo P., MacKinnon R., Wagner G. Solution structure of the potassium channel inhibitor agitoxin 2: Caliper for probing channel geometry // Protein Sci. 1995. Vol. 4. P. 1478—1489.
18. Maestro, version 9.5, Schrödinger L.L.C. New York, 2007; <http://www.schrodinger.com>
19. Eriksson M.A., Roux B. Modeling the structure of agitoxin in complex with the shaker K⁺ channel: a computational approach based on experimental distance restraints extracted from thermodynamic mutant cycles // Biophys. J. 2002. Vol. 83. N 5. P. 2595—609.
20. Tieleman D.P., Sansom M.S.P., Berendsen H.J.C. Alamethicin Helices in a Bilayer and in Solution: Molecular Dynamics Simulations // Biophys. J. 1999. Vol. 76. P. 40.
21. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: visual molecular dynamics // J. Molec. Graphics. 1996. Vol. 14. P. 33—38.
22. Dolinsky T.J., Czodrowski P., Li H., Nielsen J.E., Jensen J.H., Klebe G., Baker N.A. PDB2PQR: expanding and upgrading automated preparation of biomolecular structures for molecular simulations // Nucleic Acids Res. 2007. Vol. 35. P. W522—525.
23. Chakrapani S., Cordero-Morales J., Perozo E. A Quantitative Description of KcsA Gating II: Single-Channel Currents // J. Gen. Physiol. 2007. Vol. 130. P. 479—496.
24. LeMasurier M., Heginbotham L., Miller C. KcsA. It's a Potassium Channel // J. Gen. Physiol. 2001. Vol. 118. P. 303—314.
25. Grottesi A., Sansom M.S. Molecular dynamics simulations of a K⁺ channel blocker: Tc1 toxin from *Tityus cambridgei* // FEBS Lett. 2003. Vol. 535. N 1—3. P. 29—33.

INFLUENCE OF INTERIONIC INTERACTIONS ON FUNCTIONAL STATE OF KV CHANNELS AND ON BLOCKER BINDING

*K.V. Shaitan, O.S. Sokolova, A.K. Shaitan, M.A. Kasimova,
V.N. Novoseletsky, M.P. Kirpichnikov*

In this study we estimate the ionic current of voltage-gated potassium channel KcsA (all-atom model) on 100 ns trajectories and interactions of mammalian voltage-gated channel Kv1.2 with neurotoxin. Supercomputer "Lomonosov" has been used. Free energy profiles for one and three potassium ions in the KcsA pore were calculated. At physiological conditions ions pass through the channel pore cooperatively by files with three ions. The study of the influence of interionic interactions on the current and the influence of ionic concentration on the blocker binding were done.

Key words: *Kv ion channels, neurotoxin, molecular dynamics, inter-ion interactions.*

Сведения об авторах

Шайтан Константин Вольдемарович — докт. физ.-мат. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: shaitan49@yandex.ru

Соколова Ольга Сергеевна — канд. биол. наук, доц. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-00-05; e-mail: sokolova@mai.bio.msu.ru

Шайтан Алексей Константинович — канд. физ.-мат. наук, науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: alexeyshaytan@gmail.com

Касимова Марина Анатольевна — аспирантка кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: marina.kasimova@gmail.com

Новоселецкий Валерий Николаевич — канд. физ.-мат. наук, ассистент кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: valeryns@gmail.com

Кирпичников Михаил Петрович — докт. физ.-мат. наук, академик, декан биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: kirpichnikov@inbox.ru