

P12-2009-71

Х. Т. Холмуродов^{1,2,*}, М. С. Абашева²,
С. А. Муравьева², В. В. Тузова²

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВАЛИНОМИЦИНА
С ИОНАМИ K^+ И Na^+ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Направлено в «Журнал физической химии»

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

²Международный университет природы, общества и человека «Дубна»,
Дубна

*E-mail: mirzo@jinr.ru

Холмуродов Х. Т. и др.

P12-2009-71

Молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия валиномицина с ионами K^+ и Na^+ в водной среде

Целью настоящей работы является оценка напряженностей электрических полей (разности потенциалов) в системе валиномицин + ионы K^+ и Na^+ по данным молекулярной динамики (МД). Анализ процессов взаимодействия валиномицина с ионами калия и натрия проведен в водной среде. Получено, что взаимодействие ионов $K^+(Na^+)$ через структурную щель молекулы валиномицина возможен не при всех значениях напряженности внешнего поля. Для каждого из двух сортов ионов (K^+ или Na^+) существует предельное (критическое) значение напряженности, ассоциируемой с прочностью химической связи иона и валиномицина, при которой ион (K^+ или Na^+) все еще остается захваченным и локализованным в щели молекулы. Полученные значения хорошо согласуются с физиологическим электрическим потенциалом клетки относительно ее окружения.

Работа выполнена в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2009

Kholmurodov Kh. T. et al.

P12-2009-71

Molecular Dynamics Simulations of Interactions of Valinomycin with Potassium and Sodium Ions in Water Solvent

The aim of the present work is to estimate the value of the electric field (potentials) for the system of valinomycin + ions K^+ and Na^+ based on the molecular dynamics (MD) study. The analysis of the interaction processes for the valinomycin + ion $K^+(Na^+)$ has been performed in water solvent. It is obtained that the capturing of the ion $K^+(Na^+)$ in the valinomycin cavity has to be possible not for all values of the electrical strength. For each of two kinds of ions (K^+ or Na^+) there exists the own critical electrical field, that is associated with ion bonding to valinomycin, for which the ion has to remain yet localized inside the valinomycin cavity. The obtained results on the electrical potential are in a good agreement with the physiological value of the electrical potential in the cell of native environment.

The investigation has been performed at the Laboratory of Radiation Biology, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2009

ВВЕДЕНИЕ

Валиномицин был впервые выделен из бактерии *Streptomyces fulvissimus* в 1955 г., а в 1967 г. было установлено, что он катализирует обмен K^+ и H^+ через мембрану митохондрии внутри клеток по механизму с участием переносчика, не изменяя концентрацию Na^+ [1–3]. В биологических мембранах имеется несколько разновидностей ионных насосов, работающих за счет свободной энергии гидролиза АТФ, — специальных систем интегральных белков (транспортные АТФазы). Перенос ионов транспортными АТФазами происходит вследствие сопряжения процессов переноса с химическими реакциями за счет энергии метаболизма клеток. При работе K^+ - Na^+ -АТФазы за счет энергии химических связей, освобождающейся при гидролизе каждой молекулы АТФ, в клетку переносятся два иона калия и одновременно из клетки выкачиваются три иона натрия. Таким образом, создается электрическая разность потенциалов за счет повышенной по сравнению с межклеточной средой концентрации в клетке ионов калия и пониженной концентрации ионов натрия, что имеет огромное физиологическое значение. Конкретно, в нейронах комбинация двух механизмов отвечает за создание и поддержание динамического равновесия, соответствующего их состоянию в покое. Внутренняя концентрация натрия в клетке в 10 раз ниже, чем в ее окружении, а концентрация калия в 10 раз выше. Эти концентрации стремятся к выравниванию с помощью утечки через поры в мембране клетки. Чтобы сохранить необходимую концентрацию, протеиновые молекулы мембраны, называемые натриевыми насосами, постоянно отсасывают натрий из клетки и подкачивают калий в клетку. Каждый насос перемещает приблизительно две сотни ионов натрия и около ста тридцати ионов калия в секунду. Нейрон, к примеру, может иметь миллионы таких насосов, перемещающих сотни миллионов ионов калия и натрия через мембрану клетки в каждую секунду [2–4].

На концентрацию калия внутри ячейки влияет также наличие большого числа постоянно открытых калиевых каналов, т. е. протеиновых молекул, которые хорошо пропускают ионы калия в клетку, но препятствуют прохождению натрия. За перенос ионов калия и других веществ через мембрану в клетке ответственны специальные мембранные транспортные белки. Примером белков-переносчиков является валиномицин — переносчик ионов калия.

Молекула валиномицина имеет форму манжетки, устланной внутри полярными группами, а снаружи — неполярными. Валиномицин, относящийся к ионофорам-переносчикам, имеет макроциклическую структуру, иными словами — кольцо (см. рис. 1, а, б). В силу особенности своего химического строения валиномицин способен образовывать комплекс с ионами калия,

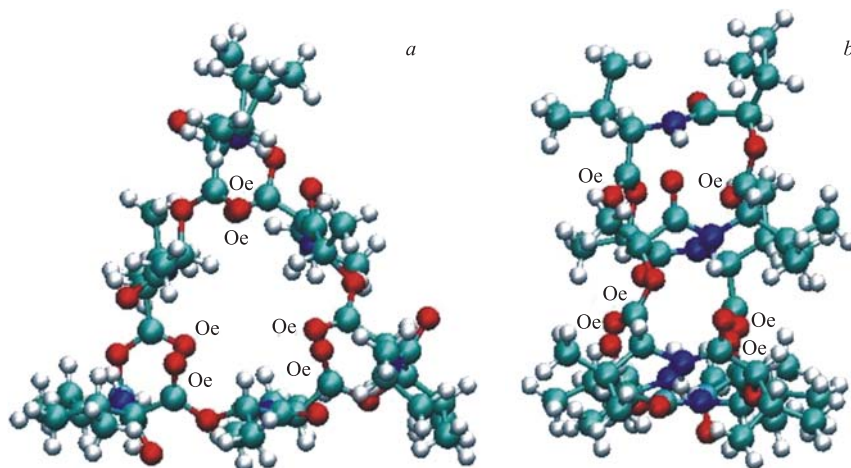


Рис. 1. Конфигурация молекулы валиномицина (*a* — вид плоскости молекулы, *b* — вид сбоку). Цветные сферы означают атомы азота (голубые шарики), углерода (серые), водорода (белые) и кислорода (красные). Шесть внутренних атомов кислорода, способных захватывать к молекуле валиномицина внешние ионы (окружающих растворителей), обозначены буквами *Oe*

попадающими внутрь молекулы — манжетки, и с другой стороны, валиномицин растворим в липидной фазе мембраны, так как снаружи его молекула неполярна. Молекулы валиномицина, оказавшиеся у поверхности мембраны, могут захватывать из окружающего раствора ионы калия. Диффундируя в мембране, молекулы переносят калий через мембрану, и некоторые из них отдают ионы в раствор по другую сторону мембраны. Градиент ионной концентрации в мембране клетки вырабатывает внутри клетки электрический потенциал – 70 мВ относительно ее окружения. Чтобы возбудить клетку (стимулировать возникновение потенциала действия) синаптические входы должны уменьшить этот уровень до приблизительно –50 мВ. При этом потоки натрия и калия сразу направляются в обратную сторону; в течение миллисекунд внутренний потенциал клетки становится +50 мВ относительно внешнего окружения [3–6].

Целью настоящей работы является оценка напряженностей электрических полей (разности потенциалов) в системе валиномицин + ионы K^+ и Na^+ по данным молекулярной динамики (МД). МД-моделирование процес-

сов взаимодействия валиномицина с ионами K^+ и Na^+ проводилось в водном растворе. Приводится сравнение результатов МД-моделирования с физиологическими данными по электрическому потенциалу в клетке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Равновесная конфигурация молекулярной системы валиномицин + ионы калия приведена на рис. 2. При этом применяются периодические граничные условия по всем пространственным направлениям. Конфигурация системы геометрически представляет собой усеченный октаэдр (*truncated octahedron boundary conditions*) с длиной боковой стороны 42,86 Å. Для МД-моделирования использовали версию 2.19 кода DL_POLY, программный пакет многоцелевого назначения [7], а начальная геометрия комплекса молекулы валиномицина задана из базы данных пакета (http://www.cse.scitech.ac.uk/ccg/software/DL_POLY/). Результаты моделирования и трехмерные изображения молекулярной системы анализировали с помощью программных пакетов RasMol и MOLMOL (Koradi et al., 1996). Следует отметить, что методы МД-моделирования наиболее успешно применялись для изучения динамических и равновесных свойств молекулы валиномицина во взаимодействии с различными катионами и растворами (см., например, [8–10]). Селективность молекулы валиномицина по отношению к ионам K^+/Na^+ показана на основе молекулярно-динамических расчетов в [8]. Процесс захвата ионов калия молекулой валиномицина исследован в работе [9]. В [10] были получены энергетические оценки связывания катиона к валиномицину.

В настоящей работе процесс МД-вычисления начинается после доведения системы до энергетически минимизированных состояний при $T = 300$ К. Для контроля значения температуры системы в течение всего процесса моделирования (от десяти до сотен тысяч шагов по времени) был применен термостат Нозэ–Хувера (NVT-ансамбль); параметр релаксации термостата — 0,5 пс [11]. Шаг интегрирования ньютоновских уравнений движения равен 2 фс. Вычисления длин химических связей молекул проводились на базе алгоритма Shake с точностью 10^{-8} . В МД-моделировании число атомов в молекуле валиномицина было равно 168; топология силового поля валиномицина учитывает всевозможные ее химические связи (ординарные и двойные, угловые и торсионные (дигедральные)). Молекула воды представляет собой 3-сайтовое жесткое тело; общее число атомов водного раствора равно $1113 \times 3 = 3339$, а число ионов калия (натрия) — 109.

Полная конфигурационная энергия МД-модели представляется как сумма внутримолекулярной валентной энергии E и энергии невалентных взаимодействий E :

$$E = E_{\text{вал}} + E_{\text{нв}}.$$

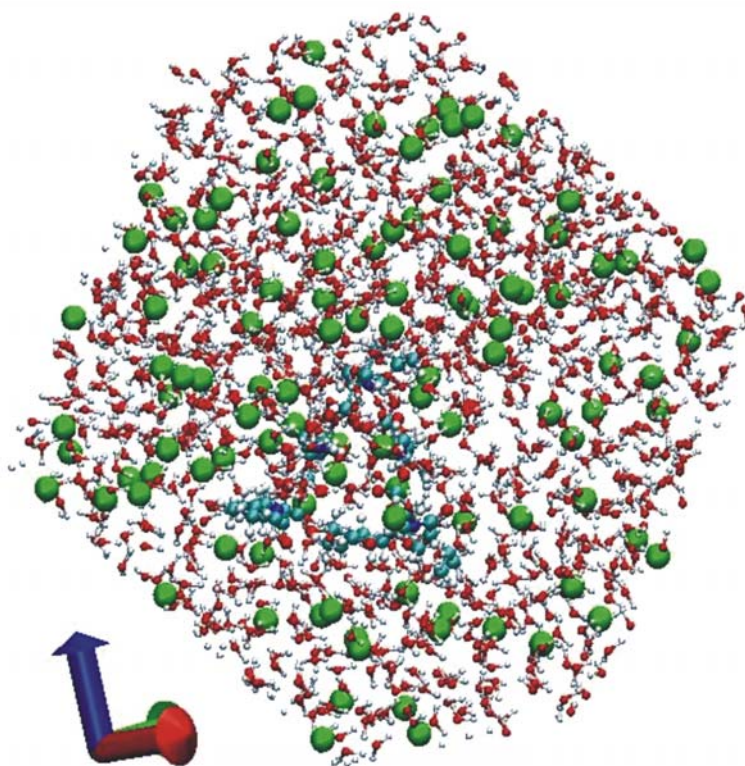


Рис. 2. Конфигурация молекулы валиномицина (в центре — цепочка в виде треугольника), окруженного ионами калия (зеленые сферы) и молекулами воды (красные сферы — атомы кислорода, белые — атомы водорода)

При этом энергия валентных взаимодействий $E_{\text{вал}}$ задается соотношением

$$E_{\text{вал}} = E_{\text{вмс}} + E_{\text{угл}} + E_{\text{торс}} + E_{\text{инв}},$$

где $E_{\text{вмс}}$ — энергия внутримолекулярной связи, $E_{\text{угл}}$ — энергия угловой связи, $E_{\text{торс}}$ — торсионная энергия и $E_{\text{инв}}$ — инверсионная энергия, а энергия невалентных взаимодействий состоит из вандерваальсовой (ВДВ), электростатической и энергии водородных связей:

$$E_{\text{нв}} = E_{\text{ВДВ}} + E_{\text{эл}} + E_{\text{вс}}.$$

Для вычисления электростатических взаимодействий был применен так называемый алгоритм «реакция поля» (reaction field) [7, 8], в котором заданная молекула окружается сферической каверной конечного радиуса, где

электростатические взаимодействия вычисляются явно; вне каверны система представляет собой диэлектрический континуум. При таком подходе полный кулоновский потенциал будет равен

$$U(r_{nj}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} q_j q_n \left[\frac{1}{r_{nj}} + \frac{B_0 r_{nj}^2}{2R_c^3} \right],$$

где R_c — радиус каверны, а постоянная B выражается через диэлектрическую константу континуума:

$$B_0 = \frac{2(\epsilon_1 - 1)}{(2\epsilon_1 + 1)}.$$

Для расчета вандерваальсовых взаимодействий был использован потенциал Леннарда–Джонса (LJ),

$$U(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right].$$

Параметры взаимодействия атомов в молекулярной системе валиномицин + ионы $K^+(Na^+)$ + вода приведены в табл. 1.

Для атомов разного сорта применялись комбинированные правила Лоренца–Бершелота (Lorentz–Berthelot combining rules):

$$\epsilon_{ij} = (\epsilon_{ii}\epsilon_{jj})^{\frac{1}{2}} \text{ и } \sigma_{ij} = \frac{1}{2}(\sigma_{ii} + \sigma_{jj}).$$

В табл. 2 приведены значения массы и заряда частиц в системе валиномицин + ионы $K^+(Na^+)$ + вода, используемые в молекулярно-динамических расчетах.

Таблица 1. Параметры потенциала Леннарда–Джонса (LJ) для атомных пар

Атомная пара	Потенциал	Функциональная форма	Параметры, ккал/моль	ϵ ,	σ , Å
C–C	LJ	$U(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]$	ϵ, σ	0,12	3,30
H–H	0,02	1,78
N–N	0,16	3,12
O–O	0,20	2,85
OS–OS	0,15	2,94
Oe–Oe	0,20	2,85
OW–OW	0,16	3,17
HW–HW	0,02	1,78
K–K	0,32	3,13
Na–Na	0,08	2,73

Таблица 2. Значения массы и заряда частиц в системе валиномицин + ионы $K^+(Na^+)$ + вода

Атом	Массовое число, а.е.м.	Зарядовое число q , в ед. e , заряд протона
C	12,01	+0,47
H	1,00	+0,21
N	14,01	-0,40
O	16,00	-0,41
OS	16,00	-0,46
Oe	16,00	-0,41
OW	15,99	-0,82
HW	1,00	+0,41
K	39,10	+1,00
Na	23,00	+1,00

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выполнялись серии МД-расчетов отдельно для систем валиномицин + ионы K^+ + вода и валиномицин + ионы Na^+ + вода при одинаковых условиях моделирования, описанные выше. С целью сообщения ионам $K^+(Na^+)$ движения, направленного строго в щели молекулы валиномицина, использовано внешнее электрическое поле с различными (фиксированными) значениями напряженности поля. Следует отметить, что без электрического поля взаимодействие валиномицина с ионами $K^+(Na^+)$ наблюдалось только в окрестностях валиномицина, а не непосредственно внутри самой щели. На рис. 3, *a, б* показаны валиномицин + ионы K^+ ; электрическое поле направлено в сторону плоскости валиномицина точно в щель молекулы (молекулы воды не показаны). Ориентация (расположение) молекулы валиномицина фиксировалась в пространстве в течение всего времени динамических изменений так, что атомы валиномицина были способны совершать только вибрационные или вращательные движения; их поступательная мобильность заморожена в исходной позиции. При таких условиях происходит эффективный обмен валиномицина с ионами $K^+(Na^+)$ и молекул воды именно в самой щели валиномицина. На рис. 4, *a, б* показаны равновесная конфигурация молекулы валиномицина + ионы Na^+ , окруженного водой, а также шесть последовательных конфигураций валиномицина и один ион натрия, проходящий через щель. Следует отметить, что проход ионов $K^+(Na^+)$ через щель валиномицина возможен не при всех значениях напряженности электрического поля. А именно, для каждого из двух сортов ионов (K^+ или Na^+) существует собственное критическое поле, при котором ион все еще остается захваченным

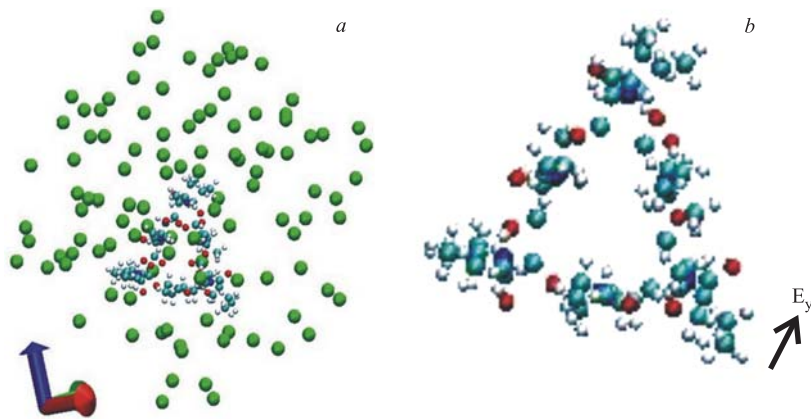


Рис. 3. Ориентация молекулы валиномицина (*a*) и направление внешнего электрического поля (*b*) для случая с ионами калия. Молекулы воды не показаны на рисунке

(локализованным) в щели молекулы валиномицина. Результаты, приведенные на рис. 5, 6, *a–в*, 7, *a, б* и 8, *a, б* иллюстрируют картину локализации (захвата) иона молекулой валиномицина внутри ее щели. На рис. 5 приведены последовательные конфигурации динамических изменений молекулы валиномицина с ионами калия. На рис. 6, *a–в* представлены диаграммы траекторий для трех ионов калия, которые находятся вне области локализации в щели валиномицина. Диаграммы иллюстрируют картину движения ионов в периодической системе. На рис. 7, *a* представлена диаграмма траектории иона калия, захваченного молекулой валиномицина. Рис. 7, *б* демонстрирует последовательные конфигурации системы ионом калия внутри области локализации в щели валиномицина.

Оценка связи иона с молекулой валиномицина произведена на основе вычисления напряженности электрического поля, которая дает по отношению к ионам калия и натрия разные значения. Различие в массах ионов ($K/Na = 39, 10/23, 00$) коррелируется с данными критических значений напряженности поля. Результаты МД-расчетов суммированы в табл. 3. Критическое поле, при котором ион все еще остается захваченным (локализованным) в щели молекулы валиномицина, для $K+$ равно 150 мВ, а для $Na+$ — около 90 мВ. Собственно говоря, предельное (критическое) значение напряженности поля разумно ассоциировать с прочностью химической связи иона ($K+$ или $Na+$) с молекулой валиномицина.

При оценках U_{cr} мы руководствовались простым соотношением $U_{cr} = E_{cr}d$, где за значение $d \sim 3 \text{ \AA}$ принималась длина щели (активной области)

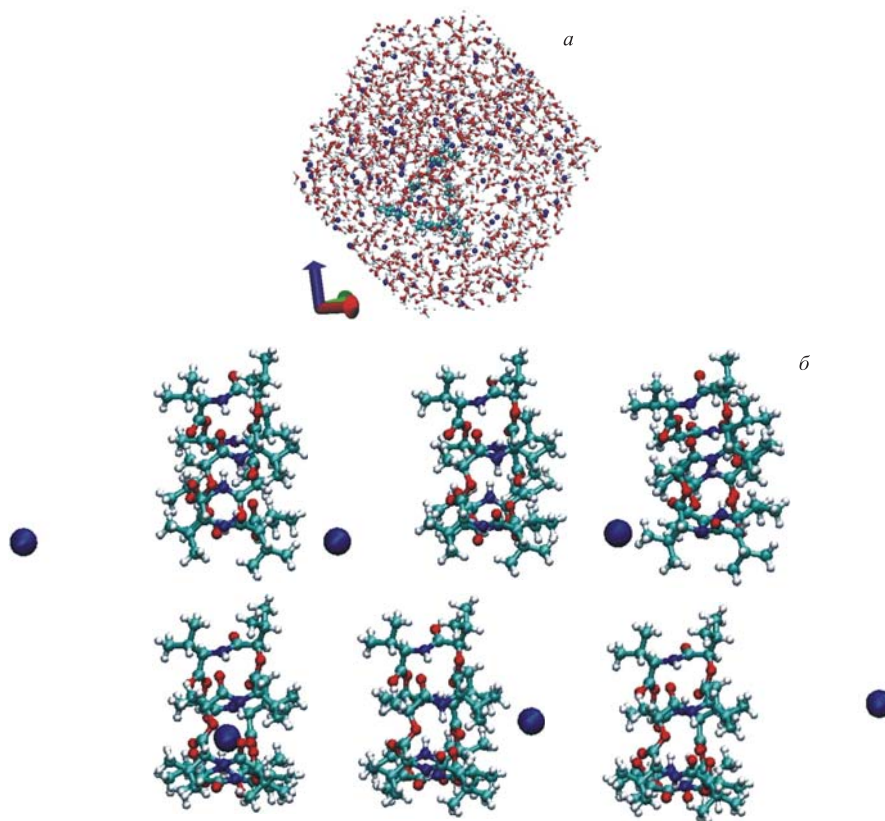


Рис. 4. Конфигурация молекулы валиномицина (*a*), окруженного ионами натрия (голубые сферы) в воде. Шесть последовательных конфигураций валиномицина с ионом натрия (*б*), проходящих сквозь щели. Конфигурации системы соответствуют времени $t = 0, 1, 2, 3, 5$ и 10 пс (электрическое поле в (*б*) направлено слева направо)

валиномицина:

$$U_{cr}(K^+) \sim 5 \cdot 10^8 \text{ Н/Кл} \times 3 \times 10^{-10} \text{ м} \sim 150 \text{ мВ} \text{ и}$$

$$U_{cr}(Na^+) \sim 3 \cdot 10^6 \text{ Н/Кл} \times 3 \times 10^{-10} \text{ м} \sim 90 \text{ мВ}.$$

Полученные значения хорошо согласуются с электрическим потенциалом (~ 100 мВ), создаваемым в мембране клетки и внутри клетки, относительно ее окружения. Более того, наличие сильной связи валиномицина с ионами K^+ . Как известно, молекулярная структура валиномицина такова,

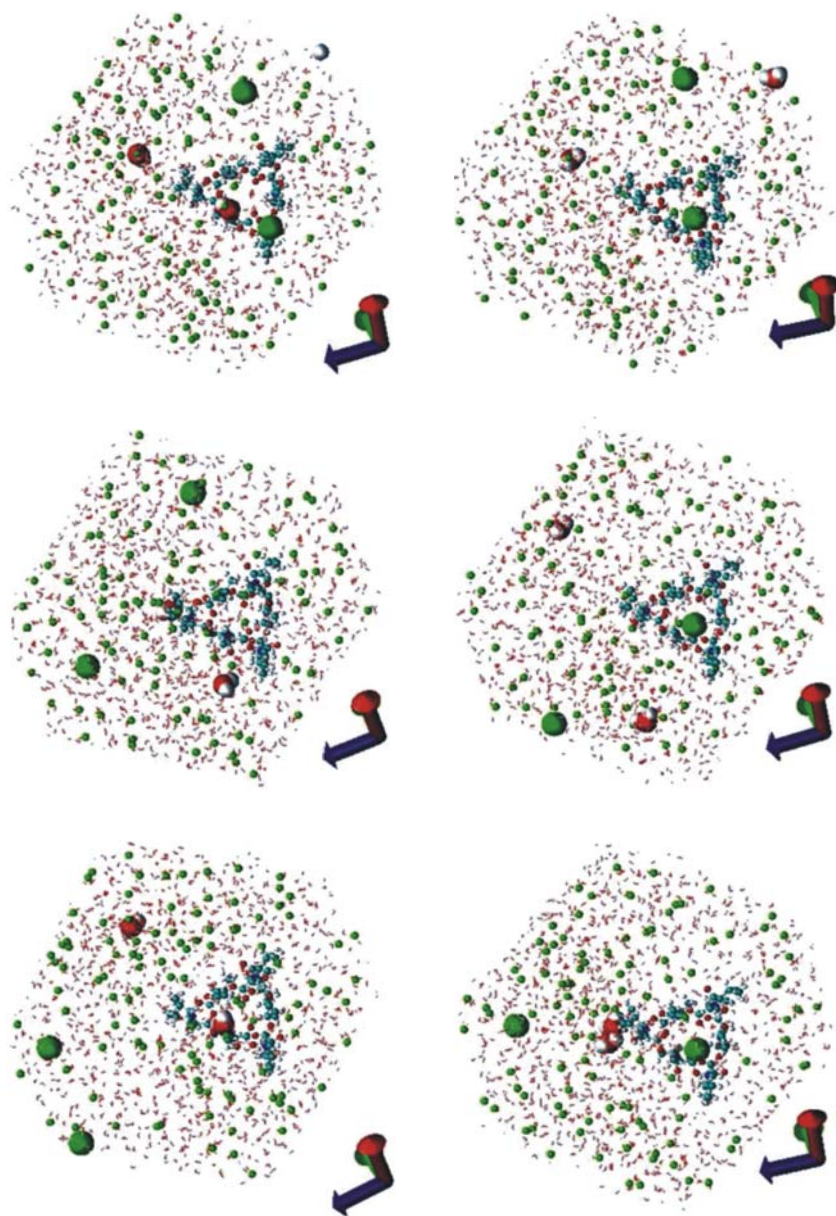


Рис. 5. Шесть последовательных конфигураций валиномицина с ионами калия (зеленые сферы). Конфигурации системы соответствуют времени $t = 0, 1, 2, 3, 5$ и 10 пс. Вид слева направо и сверху вниз

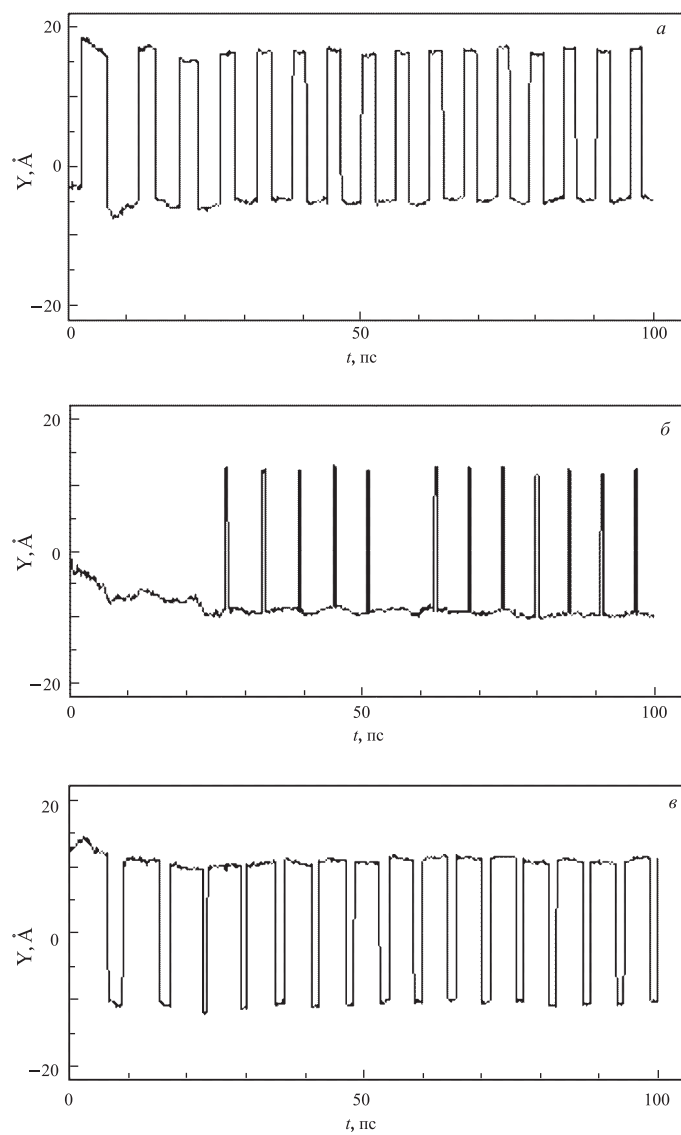


Рис. 6. Диаграммы траекторий трех ионов калия, находящихся вне молекулы валиномицина (вне области локализации в щели валиномицина)

что ее конформационная цепь способна прочно «укутать» катион металла. Валиномицин селективен к K^+ , поскольку он способен сворачиваться таким образом, чтобы образовывать почти октаэдрическую структуру сильными (не-

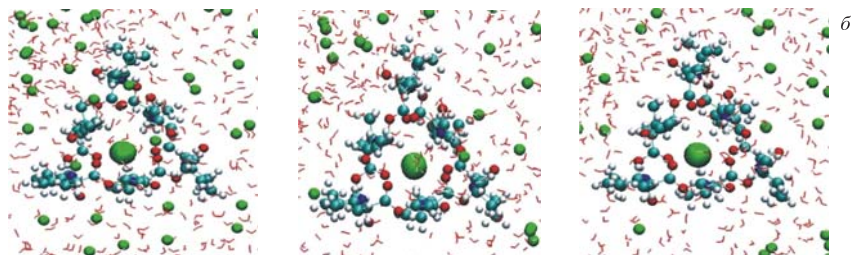
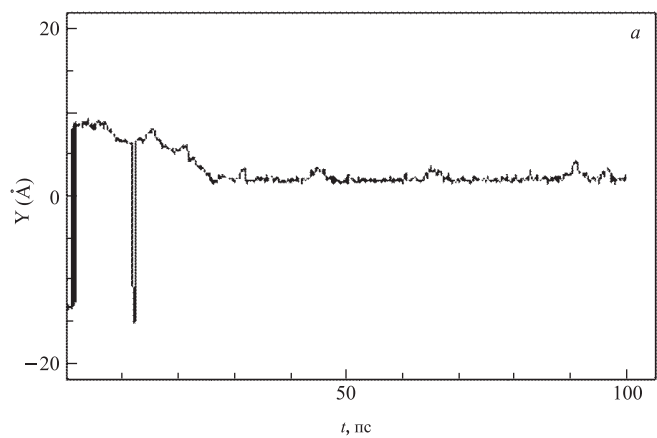


Рис. 7. Диаграмма траекторий иона калия (а), захваченного молекулой валиномицина. Три последовательных конфигурации (б) с ионом калия внутри области локализации в щели валиномицина

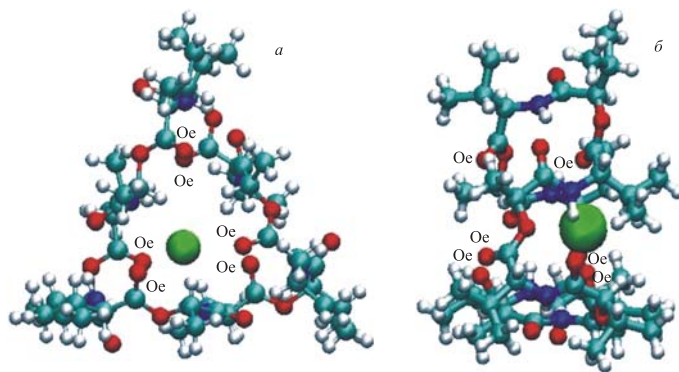


Рис. 8. Конфигурации валиномицина с ионом калия, локализованного в щели молекулы валиномицина

Таблица 3. Значения критических напряженностей электрического поля для ионов K^+ и Na^+

Критическое электрическое поле	K^+	Na^+
$E_{cr}, \times 10^8$ Н/Кл	5	3
$U_{cr}, \times 10^{-3}$ В	150	90

поляризуемыми) донорами — карбонильными атомами кислорода, в точности соответствующую размеру катиона K^+ . Данные молекулярно-динамических расчетов могут послужить предпосылкой при изучении сложных механизмов сценариев взаимодействия ионов на белковом уровне, при моделировании не-тривиальных процессов с участием валиномицина и ионов K^+ и Na^+ .

ЛИТЕРАТУРА

1. *Стюд Дж. В., Этвуд Дж. Л.* Супрамолекулярная химия. В 2-х томах. Т. 1. М.: Академкнига, 2007.
2. *Doyle D. A., Cabral J. M., Pfuetzner R. A. et al.* The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K^+ Conduction and Selectivity // *Science*. 1998. V. 280. P. 69.
3. Мембраны: Ионные каналы. Сб. ст. М.: Мир, 1981.
4. *Филлипович Ю. Б.* Основы биохимии. М.: Высшая школа, 1985.
5. *Рубин А. Б.* Биофизика. М.: Высшая школа, 1987.
6. *Албертс Б., Брэй Д., Льюис Дж. и др.* Молекулярная биология клетки. В 3-х томах. Т. 1. М.: Мир, 1994.
7. *Smith W., Forester T.* // *J. Molec. Graphics*. 1996. V. 14, No. 136. P. 3.
8. *Varma S., Sabo D., Rempe S. B.* K^+/Na^+ Selectivity in K-Channels and Valinomycin: Over-Coordination vs Cavity-Size Constraints // *J. Mol. Biol.* 2008. V. 376(1). P. 13–22.
9. *Forester T. R., Smith W., Clarke J. H. R.* Capture of Potassium Ions by Valinomycin: a Molecular Dynamics Simulation Study // *J. Phys. Chem.* 1995. V. 99(39). P. 14418–14423.
10. *Eisenman G., Alvarez O., Aqvist J.* Free Energy Perturbation Simulations of Cation Binding to Valinomycin // *J. Incl. Phenom. and Macrocyc. Chem.* 1992. V. 12, No. 1–4. P.23–53.
11. *Smith W., Forester T. R., Todorov I. T.* THE DL POLY 2 USER MANUAL, STFC Daresbury Laboratory Daresbury, Warrington WA4 4AD Cheshire, UK, Version 2.19, April 2008.

Получено 18 мая 2009 г.

Редактор *М. И. Зарубина*

Подписано в печать 21.08.2009.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 0,94. Уч.-изд. л. 1,16. Тираж 200 экз. Заказ № 56691.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/