

Описание температурных эффектов в TRP каналах на основе теории Крамерса

Окенов А.О., Япаров Б.Я., Москвин А.С.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина

a.o.okenov@yandex.com

По современным представлениям шесть термоактивируемых TRP каналов (термо-TRP) являются молекулярной основой термочувствительности млекопитающих. Эти каналы имеют очень высокую чувствительность к температуре и могут непосредственно активироваться температурой в достаточно широком диапазоне. Однако механизм, лежащий в основе высокой температурной чувствительности термо-TRP каналов, остается неизвестным. Практически все существующие модели термо-TRP основаны на теории Эйринга, согласно которой термоактивация сопровождается большими изменениями энтальпии и энтропии между открытым и закрытым состояниями. Молекулярный источник таких необычных для конформационных переходов изменений энтальпии до сих пор не обнаружен. В этой работе мы показали, что теория Крамерса имеет преимущества над теорией Эйринга при описании конформационных изменений и является более подходящей для моделирования температурных эффектов в TRP каналах. Мы адаптировали электронно-конформационную модель RyR каналов, чтобы показать, что учет динамики белка в терминах внутреннего трения может объяснить механизм термоактивации.

Ключевые слова: температурная чувствительность, термоактивируемые TRP каналы, теория Крамерса, электронно-конформационная модель, внутреннее трение.

Kramers rate theory as a starting point for modelling temperature effects in TRP channels

Okenov A.O., Iaparov B.Ya., Moskvin A.S.

Ural Federal University

In the modern concept, six thermo-activated transient receptor potential (thermo-TRP) channels are the molecular basis of the thermosensation. These channels show outstanding temperature sensitivity and can be directly activated by temperature from noxious cold to noxious heat. However, the mechanism that underlies the extreme temperature sensitivity of the TRP channels remains largely unknown. Almost all thermo-TRP models are based on Eyring rate theory, according to which thermo-activation is associated with large changes in standard-state enthalpy and entropy between states. The molecular source of such unusual enthalpy changes is still unrevealed. In this work, we showed that Kramers rate theory is more appropriate starting point for modeling temperature effects in TRP channels. We adapted the electron-conformational model of RyR channels to show that considering the protein dynamics in terms of the internal friction can take advantages for the understanding of thermo-activation mechanism.

Key words: temperature sensation, thermo-activated TRP channels, Kramers rate theory, electron-conformational model, internal friction.

1. Введение

Восприятие температуры организмами является критическим фактором выживания практически всех организмов. По современным представлениям, температурная чувствительность на молекулярном

уровне обеспечивается термочувствительными TRP каналами (термо-TRP). Данные каналы имеют высокую чувствительность к изменению температуры и могут активироваться либо при повышении, либо при понижении температуры [1].

На сегодняшний день, механизм, обеспечивающий высокую температурную

чувствительность данным каналам, остается не известным. Ряд исследователей предположили, что активация канала сопровождается существенными изменениями энергетических характеристик канала [2–4]. Согласно данной теории, которая основывается на уравнении Эйринга, канал активируется за счет изменения энтальпии ΔH и энтропии канала ΔS , а вероятность открытия задается уравнением Больцмана:

$$P_o = \frac{1}{1 + k_0 \exp\left(\frac{\Delta H - T\Delta S}{RT}\right)}, \quad (1)$$

где k_0 – константа, R – газовая постоянная, T – абсолютная температура. Значение ΔH , полученные при описании экспериментальных результатов, достаточно большие (порядка 100 ккал/моль) [4], что не характерно для конформационных изменений. К тому же, в зависимости от типа активации канала – холодомили теплом – меняется знак обеих величин.

Для объяснения столь существенных изменений в термодинамике канала была выдвинута гипотеза, согласно которой в основе механизма активации лежит изменение молярной теплоемкости ΔC_p [5]. Согласно законам термодинамики:

$$\Delta H = \Delta H_0 + \Delta C_p (T - T_0),$$

$$\Delta S = \Delta S_0 + \Delta C_p \ln\left(\frac{T}{T_0}\right),$$

где ΔH_0 и ΔS_0 – разница в энтальпии и энтропии между открытым и закрытым состояниями при произвольно выбранной температуре T_0 . Главными следствиями данного подхода являются три постулата:

- активация холодоактивируемых и теплоактивируемых TRP каналов сопровождаются схожими конформационными изменениями;
- все термо-TRP каналы могут активироваться как холодом, так и теплом;
- источником высокой температурной чувствительности является разница в молярной теплоемкости между открытым и закрытым состояниями.

Но экспериментальных данных, подтверждающих постулат об одновременной активации теплом и холодом всех каналов не обнаружено, остальные постулаты тоже является предметом дискуссий [6].

Вопрос о непосредственной активации температурой TRP каналов является спорным, так как некоторые исследователи предполагают, что температура может модулировать активацию электрическим потенциалом [3]. С другой стороны, другие исследователи утверждают, что в структуре канала имеются модули специфически чувствительные к температуре – термосенсоры, в которых происходит основные конформационные изменения при переходе канала из одного состояния

в другое. Поиску таких областей было посвящено множество исследований с мутациями, но однозначного результата они не дали [7–9].

Модели, основанные на данном предположении, подразумевают, что термосенсоры аллостерически взаимодействуют с сенсорами электрического потенциала (областями белка с нескомпенсированным электрическим зарядом), а также с центрами связывания лигандов. Данные модели имеют множество открытых и закрытых состояний, что идет в соответствие с результатами исследований кинетики одиночного канала [2], хотя остается непонятным каким образом данные участки взаимодействуют друг с другом на физическом уровне.

Но все имеющиеся модели не учитывают динамические свойства белка, которые задаются параметрами внутреннего трения. Данная концепция была успешно применена для описания температурных эффектов в RyR-каналах [10]. Мы адаптировали существующую модель и показали, что открытие канала может сопровождаться небольшими энергетическими изменениями.

2. Модель термо-TRP каналов

2.1. Электронно-конформационная модель

В рамках электронно-конформационной модели предполагается энергетическое описание канала. Для этого записывается эффективный Гамильтониан – оператор энергии одиночного канала:

$$\mathbf{H} = -\hat{\Delta s}_z - \hat{h} s_x - pQ + \frac{KQ^2}{2} + aQ\hat{s}_z,$$

где \hat{s}_x и \hat{s}_z – матрицы Паули, первые два слагаемые описывают чисто электронные эффекты: первое слагаемое описывает разницу энергий электронных состояний Δ , второе описывает квантовые эффекты перехода между двумя электронными состояниями.

Следующие два слагаемых – линейный и квадратичный вклады в упругую энергию канала, причем линейное слагаемое формально соответствует энергии внешних воздействий, описываемых «эффективным давлением» p , K – эффективная постоянная упругости канала.

Последнее слагаемое описывает электронно-конформационные взаимодействия с константой взаимодействия a . При выборе безразмерной конформационной координаты Q все параметры Δ , h , p , K , a имеют размерность энергии [11].

Два собственных значения гамильтониана задают ветви адиабатического конформационного потенциала

$$E_{\pm} = \frac{KQ^2}{2} - pQ \pm \frac{1}{2} \sqrt{(\Delta - aQ)^2 + h^2}.$$

Конформационный потенциал имеет два минимума, которые соответствуют открытому и закрытому состояниям канала (рис. 1).

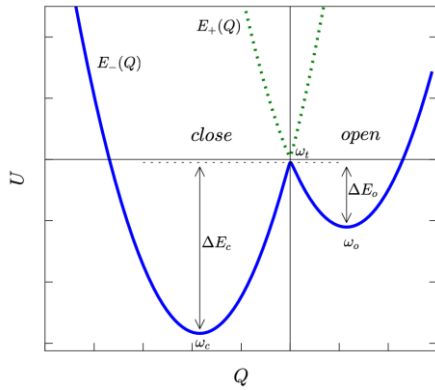


Рис. 1. Конформационный потенциал, с глобальным минимумом в закрытом состоянии.

Конформационная динамика модели описывается уравнением Ланжевена:

$$M \ddot{Q} = -\frac{\partial}{\partial Q} E_{\pm}(Q) - \Gamma \dot{Q} + \xi(t),$$

где M – эффективная масса, первое слагаемое в правой части описывает обобщенную силу, Γ – параметр эффективного «внутреннего» трения, $\xi(t)$ – сила случайных «температурных» флуктуаций, причем

$$\begin{aligned} \langle \xi(t) \rangle &= 0, \\ \langle \xi(t) \xi(t') \rangle &= 2\gamma k_B T \delta(t - t'), \end{aligned}$$

где γ – параметр «внешнего» трения.

Таким образом, разделяя параметры «внутреннего» трения, которое характеризует внутренние взаимодействия белка, и «внешнего» трения, описывающее взаимодействие с молекулами среды, мы учитываем динамические свойства системы.

2.3. Теория Крамерса

Теория Крамерса, разработанная еще в 1940 году, активно используется для описания процессов с участием различных источников трения. В биофизике данная теория нашла широкое применение в описании свертывания белков [12, 13] и конформационных изменений в ферментах [14]. В рамках данной теории рассматривается модельный процесс: частица, которая находится под воздействием сил трения, покидает потенциальную яму преодолев энергетический барьер за счет тепловых флуктуаций [15]. Крамерс в своей работе вычислил скорость этих переходов.

Необходимо также заметить, что теория Крамерса является более общим случаем теории активированного состояния, которое главным инструментом описания температурных эффектов в термо-TRP каналах. Разница в теориях заключается в том, что теория Крамерса позволяет учитывать потери энергии за счет частиц среды и внутренних взаимодействий.

Наша модель может быть сведена к задаче Крамерса если взять параметр h не нулевым, что

приведет к разделению верхней ветви конформационного потенциала $E_+(Q)$ от нижнего (рис. 1). Рассматривая случай сильного трения [15], который характерен для конформационных изменений в белках [14], можно получить скорости переходов в виде:

$$k = \frac{\omega_t \omega}{2\pi\Gamma} \exp\left[-\frac{\Gamma}{\gamma} \frac{\Delta E}{k_B T}\right],$$

где ω и ω_t – частота осцилляций около минимума и на вершине барьера, соответственно, ΔE – высота энергетического барьера.

3. Результаты

Самой простой моделью, способной описать процессы активации каналов, является схема с двумя состояниями: одним открытым и одним закрытым. В нашей модели количество состояний бесконечно, так как конформационный потенциал непрерывен (рис. 1). Но ее можно свести к модели с двумя состояниями, вычислив скорости переходов из открытого k_o и закрытого k_c состояний согласно теории Крамерса. Тогда вероятность перехода из закрытого состояния в открытое будет определяться как:

$$P_o = \frac{1}{1 + \frac{k_o}{k_c}}.$$

С помощью данной формулы были получены кривые активации для теплоактивируемого TRPV1 канала (рис. 2,а) и для холодоактивируемого TRPM8 канала (рис. 2,б). Причем, параметры модели были подобраны таким образом, чтобы высота барьеров не превышала 1 ккал/моль. В качестве теоретических данных были использованы кривые, полученные согласно уравнению (1) [3]. Для подтверждения результатов расчетов согласно теории Крамерса была реализована численная схема решения уравнения Ланжевена [16] и произведены вычисления.

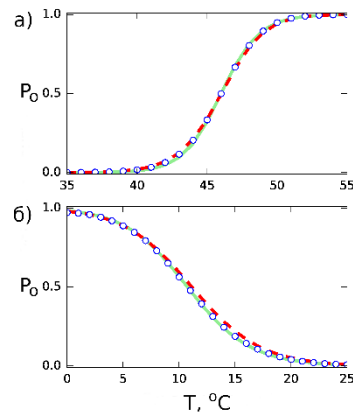


Рис. 2. Кривые активации (а) TRPV1 и (б) TRPM8 каналов: сплошная линия – исходная кривая; пунктирная – теория Крамерса; точки – результаты численного решения.

3. Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации. Проект 5719.

4. Список литературы

1. Dhaka A., Viswanath V., Patapoutian A. TRP ion channels and temperature sensation. *Annu. Rev. Neurosci.* 2006. V. 29. P. 135–161. doi: [10.1146/annurev.neuro.29.051605.112958](https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112958).
2. Lui B., Hui K., Qin F. Thermodynamics of heat activation of single capsaicin ion channels VR1. *Biophys. J.* 2003. V. 85. P. 2988–3006. doi: [10.1016/S0006-3495\(03\)74719-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74719-5)
3. Voets T., Droogmans G., Wissenbach U., et al. The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature.* 2004. V. 430. P. 748–754. doi: [10.1038/nature02732](https://doi.org/10.1038/nature02732).
4. Yao J., Liu B., Qin F. Kinetic and Energetic Analysis of Thermally Activated TRPV1 Channels. *Biophys. J.* 2010. V. 99. № 6. P. 1743–1753. doi: [10.1016/j.bpj.2010.07.022](https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.07.022).
5. Clapham D.E., Miller C. A thermodynamic framework for understanding temperature sensing by transient receptor potential (TRP) channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 49. P. 19492–19497. doi: [10.1073/pnas.1117485108](https://doi.org/10.1073/pnas.1117485108).
6. Voets T. Quantifying and Modeling the Temperature-Dependent Gating of TRP Channels. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2012. V. 16. P. 91–119. doi: [10.1007/112_2011_5](https://doi.org/10.1007/112_2011_5).
7. Latorre R., Brauchi S., Orta G., et al. ThermoTRP channels as modular proteins with allosteric gating. *Cell Calcium.* 2007. V. 42. P. 427–438. doi: [10.1016/j.ceca.2007.04.004](https://doi.org/10.1016/j.ceca.2007.04.004).
8. Yang F., Cui Y., Wang K.W., Zheng. J. Thermosensitive TRP channel pore turret is part of the temperature activation pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 7083–7088. doi: [10.1073/pnas.1000357107](https://doi.org/10.1073/pnas.1000357107).
9. Yao J., Liu B., Qin F. Modular thermal sensors in temperature-gated transient receptor potential (TRP) channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 11109–14. doi: [10.1073/pnas.1105196108](https://doi.org/10.1073/pnas.1105196108)
10. Moskvin A.S., Iaparov B.I., Ryvkin A.M., et al. Electron-conformational transformations govern the temperature dependence of the cardiac ryanodine receptor gating. *JETP Letters.* 2015. V. 102. № 1. P. 62–68. doi: [10.1134/S002136401513010X](https://doi.org/10.1134/S002136401513010X).
11. Moskvin A.S., Philipiev M.P., Solovyova O.E., et al. Electron-conformational model of ryanodine receptor lattice dynamics. *Prog. in Bioph. And Mol. Biol.* 2005. V. 90. P. 88–103. doi: [10.1016/j.pbiomolbio.2005.06.007](https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2005.06.007).
12. Best R.B., Hummer G. Coordinate-dependent diffusion in protein folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 6732–6737. doi: [10.1073/pnas.0910390107](https://doi.org/10.1073/pnas.0910390107).
13. Hagen S.J. Solvent Viscosity and Friction in Protein Folding Dynamics Current. *Protein and Peptide Science.* 2010. V. 11. № 5. P. 385–395.
14. Rauscher A.A., Simon Z., Szöllosi G.J., et al. Temperature dependence of internal friction in enzyme reactions. *The FASEB Journal.* 2011. V. 25. № 8. P. 2804–2813. doi: [10.1096/fj.11-180794](https://doi.org/10.1096/fj.11-180794).
15. Hänggi P., Talkner P., Borkovec M. Reaction-rate theory: fifty years after Kramers. *Rev. Mod. Phys.* V. 62. № 2. P. 251–342. doi: [10.1103/RevModPhys.62.251](https://doi.org/10.1103/RevModPhys.62.251).
16. Vanden-Eijndena E., Ciccottib G. Second-order integrators for Langevin equations with holonomic constraints. *Chem. Phys. Lett.* 2006. V. 429. P. 310–316. doi: [10.1016/j.cplett.2006.07.086](https://doi.org/10.1016/j.cplett.2006.07.086).