

14.1

Электронно-конформационная модель рианодиновых каналов сердечной клетки

© А.С. Москвин

Уральский федеральный университет,
620083 Екатеринбург, Россия
e-mail: alexander.moskvin@urfu.ru

(Поступило в Редакцию 15 января 2018 г.)

Изложены основные представления электронно-конформационной (ЭК) модели лиганд-активируемых рианодиновых каналов (RyR), в рамках которой множество степеней свободы этого гигантского наноскопического молекулярного комплекса сводится к двум, условно называемым электронной и конформационной. В простейшем варианте модели („toy model“) конформационный потенциал, или энергетический профиль, RyR-канала представляет собой две ветви, описывающие зависимость энергии от конформационной координаты („координаты реакции“) в исходном и лиганд-активированном состояниях соответственно. Рассмотрено обобщение модели с учетом как тетрамерной структуры RyR-канала, так и дополнительной („ортогональной“) вращательной конформационной моды. Показано, что ЭК модель дает биофизическое обоснование традиционной феноменологической модели марковских цепей. В качестве иллюстрации возможностей ЭК модели приведены ссылки на примеры модельного описания динамики изолированных RyR-каналов и кластеров RyR-каналов в высвобождающих единицах сердечной клетки.

DOI: 10.21883/JTF.2018.09.46415.19-18

Введение

Динамика внутриклеточного кальция (Ca^{2+}) играет принципиальную роль в функционировании сердечных клеток, являясь центральным звеном в электромеханическом сопряжении в рабочих кардиомиоцитах и формирования сердечного ритма в клетках синусно-предсердного узла (SANC) [1]. Сокращения сердечных клеток активируются повышением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} за счет периодического высвобождения Ca^{2+} из просвета люмена терминальных цистерн (ТЦ) саркоплазматического ретикулума (СР) в результате процесса, называемого „кальцием, вызванного высвобождением кальция“ (КВБК). Особенностью КВБК является триггерный характер высвобождения большого количества Ca^{2+} из СР в ответ на стимуляцию в виде относительно небольшого количества Ca^{2+} , поступающего из внеклеточной среды через сарколеммальные каналы *L*-типа. Высвобождение кальция из СР происходит через рианодиновые рецепторы (RyR-каналы) в ответ на локальное повышение концентрации Ca^{2+} в так называемом диадном пространстве (или субпространстве) между сарколеммой и мембраной СР. Рецепторы сердечного типа (RyR2) являются общими основными каналами высвобождения Ca^{2+} в SANC и желудочковых миоцитах. Изменение функции RyR2 рассматривается как важнейший фактор сердечно-сосудистой патофизиологии, такой как унаследованная аритмия, сердечная недостаточность и кардиомиопатия. В итоге RyR2 теперь рассматривается как важнейший новый элемент медикаментозной терапии [2]. Канал RyR2 вместе с регуляторными белками, включая FKBP12.6, кальцекевстрин, джанктин и триадин, образует мультимолекулярный комплекс, от-

вечающий за точное регулирование количества Ca^{2+} , выделяемого в цитозоль в течение каждого сердечного цикла. Этот гигантский ($30 \times 3 \times 15 \text{ nm}$) наноскопический макромолекулярный белковый комплекс, содержащий 4 субъединицы 565 kDa каждый, состоит из большой тетрагонально-структурированной цитоплазматической головки, выходящей из СР в диадное пространство между сарколеммой и СР, включающей примерно до 80% от массы белка. Остальная (~ 20% массы) часть RyR-канала находится в трансмембранной области СР и охватывает Ca^{2+} -проводящие поры и фильтр селективности. В цитоплазматической области каждого протомера выделены девять основных доменов, включая четыре домена с armadillo-повторами — аминоконцевой домен (NTD), Handle-домен, Helical-домен и центральный домен, три SPRY-домена (структурные домены, идентифицированные в SptA и RyR), два домена P1, P2. Недавние исследования электронной криомикроскопии (крио-ЕМ) [3] показывают, что RyR претерпевает большие перестройки структуры как в трансмембранном, так и особенно в цитоплазматическом сегментах, когда он переходит между закрытым и открытым состояниями при активации Ca^{2+} . Минимальный радиус поры в закрытом состоянии (~ 0.5 Å) определяется положением молекулярных остатков Ile4868. При 20 μM Ca^{2+} цитоплазматические „ворота“ уширяются примерно на 8 Å, а минимальный радиус поры в открытом состоянии (~ 2 μÅ) определяется теперь положением четырех молекулярных остатков Gln4864.

Структурное сравнение открытого и закрытого RyR2 показывает относительно небольшую внутридоменную перестройку цитоплазматических доменов. Относительные сдвиги между этими доменами приводят к „ды-

хательно-вращательной“ моде движения периферии цитоплазматической части RyR, образованной Helical-доменом, SPRY-доменами и доменами P1, P2, сопровождаемую своеобразным качанием в сторону люмена CP и вращения по часовой стрелке при наблюдении со стороны цитоплазмы. Отметим, что „дыхательная“ мода в теории колебательных спектров молекул соответствует полносимметричной моде. Центральный домен, представляющий собой относительно подвижное образование стабильных структурных единиц (VSL-домен, U-мотив, CTD, . . .), переводит конформационные изменения цитоплазматических датчиков, индуцированные различными стимулами, в изменение сечения центральной поры.

Отметим, что, несмотря на высокое разрешение, последние данные криоэлектронной микроскопии [3] не дали ответа на положение центра Ca^{2+} -активации, или центра Ca^{2+} -связывания. В открытом состоянии соответствующая электронная плотность не обнаружена.

Основным результатом экспериментального исследования динамики изолированных RyR-каналов в липидном бислое в стационарном режиме *cis*- и *trans*-концентраций Ca^{2+} можно считать обнаружение спонтанного переключения канала между двумя активными режимами функционирования (gating) с низкой (*L*) и высокой (*H*) вероятностями P_o открытия канала, а также неактивным (*I*) режимом. Как и для многих других ионных каналов, для RyR-каналов может наблюдаться режим „пакетов“ быстрых переключений открытие–закрытие (bursts), разделяемых относительно длительными закрытыми состояниями [4,5].

В настоящей работе изложены основные представления электронно-конформационной (ЭК) модели лиганд-активируемых RyR-каналов [6–13] и ее обобщение с учетом как тетрамерной структуры RyR-канала, так и дополнительной („ортогональной“) вращательной конформационной моды. В разд. 1 рассмотрены проблемы модельного описания структуры и динамики RyR-каналов. В основных разд. 2 и 3 рассмотрены простейшая ЭК модель и ее обобщение соответственно. Краткое заключение — в разд. 4.

1. Проблемы модельного описания структуры и динамики RyR-каналов

Как и все ионные каналы, RyR имеет огромное число внутренних электронных и конформационных степеней свободы, однако его основная функция связана с относительно движением крупных фрагментов, т.е. доменов, друг относительно друга, что по твердотельной терминологии связано с низкочастотными оптическими модами. Формирование устойчивой конфигурации/конформации RyR-канала можно рассматривать как результат конденсации определенной оптической моды. Однако подходы, типичные для небольших „жестких“ высокосимметричных молекул и кристаллических твердых тел,

основанные на введении симметризованных смещений и соответствующих колебательных мод, для таких огромных „нежестких“ (exible) наноскопических образований как RyR-каналы оказываются малопродуктивными. В такой ситуации особое значение приобретают различные модельные подходы, заведомо огрубляющие структуру белка и предполагающие выделение основных активных степеней свободы и соответствующих основных конформационных координат [14,15]. В частности, это относится к модели воротного механизма функционирования ионных каналов [16], а также к модели упругой трубки с крышкой [6–11]. В общем случае в таких моделях вводится многоконфигурационное/конформационное пространство с конформационным потенциалом, или энергетическим профилем, предполагающим существование различных (мета)стабильных конформационных состояний (конфигураций) [17]. Функционирование канала предполагает движение в многомерном пространстве с характерными временами задержки в метастабильных состояниях, подобное движению горнолыжника по сложному профилю горной трассы. Отметим, что „горнолыжная“ аналогия предполагает отсутствие влияния „транспортных“ ионов Ca^{2+} на конформационный потенциал.

Традиционно рассматривается „химический“ механизм Ca^{2+} активации RyR2-канала, согласно которому ионы Ca^{2+} связываются с определенными центрами (binding site) одного или нескольких мономеров. В этом случае логично вводить два или несколько конформационных потенциала, для исходного состояния и состояния со связанным лигандом или лигандами соответственно. Однако возможен и „физический“ механизм Ca^{2+} активации, который не предусматривает химического связывания, а подразумевает эффект неупругого рассеяния ионов Ca^{2+} на RyR2-канале с возбуждением последнего либо в пределах одной ветви конформационного потенциала, либо переход между различными ветвями потенциала.

Дальнейшее упрощение модели конформационного потенциала предполагает проектирование многомерного энергетического профиля на одномерное (1D) пространство с введением единственной эффективной конформационной координаты Q , которую по аналогии с описанием химических реакций можно назвать координатой реакции. В этом случае можно использовать простую теорию Крамерса, уравнения одномерной диффузии и уравнение Ланжевена для описания динамики системы. С координатой реакции в ионных каналах естественно связать эффективное сечение канала и/или проводимость канала. Вообще говоря, переход к эффективному одномерному 1D конформационному потенциалу приводит к замедлению динамики из-за существования локальных минимумов и барьеров вдоль координат, „ортогональных“ координате реакции Q . Эффект замедления может быть учтен введением эффективно-го „внутреннего,“ трения [18] с коэффициентом трения $\Gamma(Q)$. Таким образом, барьеры вдоль координаты реакции учитываются в эффективном конформационном

потенциале явно, тогда как барьеры вдоль ортогональных координат учитываются введением эффективного внутреннего трения или коэффициента диффузии, зависящих от координаты реакции. Однако, как показано ниже в разд. 3, переход к одномерной модели может в отдельных случаях грозить потерей принципиально важной информации о динамике канала.

Несмотря на очевидную физическую обоснованность одномерной конформационной модели, она не получила широкого распространения. Наиболее популярными для интерпретации динамики RyR-канала остаются феноменологические марковские кинетические модели [5], в основе которых задание некоторого минимального набора возможных состояний канала: О — открытое, С — закрытое, I — инактивационное, а также вероятностей переходов между ними. Число состояний и величины вероятностей переходов между ними подбираются из условия оптимального описания экспериментальных данных по динамике изолированных RyR-каналов, прежде всего распределения времен нахождения канала в открытом и закрытом состояниях. К сожалению, экспериментальные данные для „изолированных“ RyR-каналов часто получены в различных условиях (люменальный Ca^{2+} , АТФ, Mg^{2+} , ...) с использованием различной техники обработки результатов, что мешает объективному сравнению различных данных. Более того, в работе Мухерджи с соавторами [5] на примере hRyR2 (human RyR2), изолированного от внешних модуляторов (purified hRyR2), показана невозможность описания динамики изолированного канала в рамках единой кинетической модели для широкого диапазона концентрации активирующего $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$. Авторы были вынуждены ввести три кинетические схемы для трех концентрационных интервалов. В рамках марковских кинетических моделей был предсказан ряд новых эффектов, в частности, существование открытых состояний канала без Ca^{2+} -активации и закрытых состояний в Ca^{2+} -связанном состоянии.

Очевидно, что все (мета)стабильные состояния марковских кинетических моделей естественным образом должны связываться с локальными минимумами конформационных потенциалов для исходного и лиганд-активированного состояний канала, что позволяет связать два модельных подхода к описанию структуры и динамики ионных каналов.

2. Простейшая ЭК модель

Очевидно, что проводимость ионных каналов так или иначе определяется ведущей „дыхательной“ (breathing) конформационной модой, непосредственно связанной с изменением поперечного сечения канала, так что в качестве координаты реакции Q естественно выбрать средний радиус, или, проще, наименьший радиус сечения канала (constriction site).

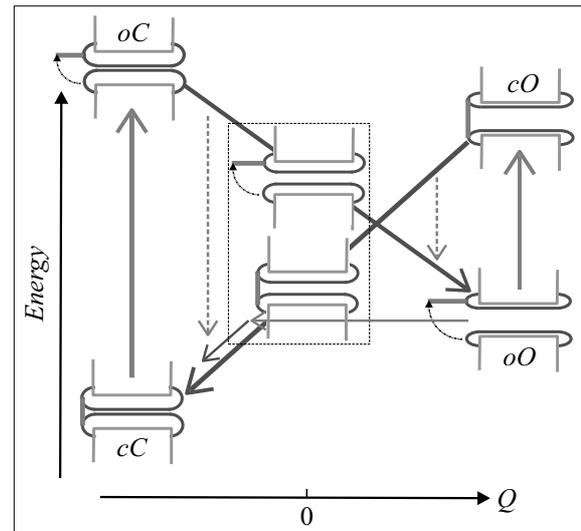


Рис. 1. Наивная модель „трубка с крышкой“ для RyR-канала в закрытом основном состоянии. Строчные буквы c, o используются для обозначения не связанных и связанных с Ca^{2+} состояний соответственно, а прописные буквы C, O — для обозначения конформационно закрытых и открытых состояний соответственно.

В основе простейшей ЭК модели (plug-and-tube model) [6–12] лежит представление о RyR-канале как о некой „упругой“ трубке с переменным сечением, определяемым конформационной координатой Q , и легкой „электронной крышкой“, переключаемой связыванием/отсоединением ионов Ca^{2+} с RyR-каналом (рис. 1). „Электронная крышка“ связана с конформационной координатой Q и работает как триггер для стимуляции ее изменения, соответственно изменения проводимости RyR-канала. Другими словами, мы свели огромное число степеней свободы RyR-канала к двум: быстрой и медленной, условно называя их электронной и конформационной соответственно. Забывая о достаточно сложной структуре RyR-каналов, мы предполагаем существование только двух электронных состояний канала: „открытого“ и „закрытого“, а единственная конформационная координата Q считается классической переменной. Очевидно существование некоторого критического значения координаты реакции Q_{cr} , определяющего порог проводимости канала, так что при $Q < Q_{\text{cr}}$ канал считается конформационно закрытым, а при $Q > Q_{\text{cr}}$ — конформационно открытым и проводящим. В дальнейшем в качестве координаты реакции Q мы примем ее отклонение от критического значения, сохранив при этом обозначение Q . Выбор зависимости проницаемости $D(Q)$ от конформационной координаты Q является одним из принципиальнейших элементов описания модельного канала. Из самых общих соображений проницаемость должна расти с ростом Q , меняясь от малых величин, соответствующих возможной утечке при $Q \approx 0$, до некоторого предельного значения при больших Q . Однако в самой простой

модели можно пользоваться степенной зависимостью:

$$D(Q) = DQ^\beta (Q \geq 0). \quad (1)$$

2.1. Конформационный потенциал модельного RyR-канала

Конформационный потенциал $V(Q)$ в общем случае имеет сложный вид с глобальным и локальным минимумами (рис. 2), связываемых с основным и возбужденными метастабильными состояниями модельного канала соответственно. В простейшей модели мы ограничимся классическим гармоническим приближением, в котором конформационный потенциал может быть представлен в виде, типичном для упругой системы, как

$$V(Q) = V_0 - pQ + \frac{K}{2} Q^2, \quad (2)$$

где $K > 0$ — эффективная константа „упругости“ канала, а параметр p имеет смысл эффективного давления. Минимум конформационной энергии $E_{\min} = V_0 - p^2/2K$ при $Q_{\min} = p/K$ определяет либо закрытое при $Q_{\min} < 0$, либо открытое при $Q_{\min} > 0$ основное состояние канала. Таким образом, изменение знака эффективного давления реализует переключение $C \leftrightarrow O$ (closed \leftrightarrow open) для основного состояния канала. Обратим внимание, что при этом даже в основном закрытом состоянии возможны открытия в возбужденных состояниях. Очевидно, что связывание канала с лигандом приводит к изменению конформационного потенциала, что в гармоническом приближении приводит к изменению трех параметров V_0, K, p . Вводя число n , равное нулю в отсутствие лиганда и равное единице в связанном с лигандом состоянии, запишем конформационный потенциал модельного канала в общем для обеих ветвей виде как

$$V_n(Q) = \Delta n - p_n Q + \frac{K_n}{2} Q^2, \quad (3)$$

где параметр Δ определяет изменение энергии канала при присоединении лиганда в конформационном состоянии $Q = 0$.

До сих пор мы рассматривали модельный канал как классическую двухуровневую систему, что кажется

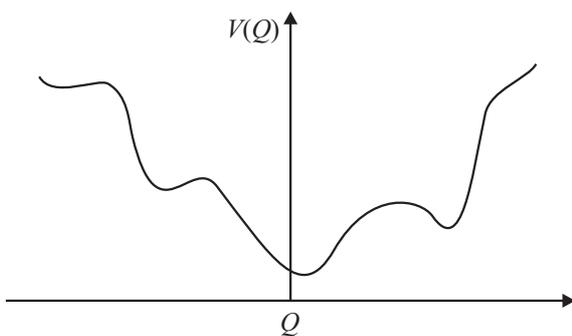


Рис. 2. Типичный вид одномерного энергетического профиля в функции конформационной координаты реакции.

вполне оправданным для такого большого наноскопического объекта как RyR-канал. Однако, строго говоря, даже для таких объектов мы не можем избежать учета квантовых эффектов прежде всего вблизи точек Q_{int} пересечения ветвей конформационного потенциала, точек „случайного вырождения“ $V_0(Q_{int}) = V_1(Q_{int})$. Квантовое обобщение двухуровневой задачи может быть легко выполнено введением вместо конформационного потенциала $V_n(Q)$ оператора Гамильтона, или, проще говоря, матрицы 2×2 [6–8,10–13]:

$$\hat{H} = \Delta \hat{s}_z - h \hat{s}_x - pQ + \frac{K}{2} Q^2 + aQ \hat{s}_z, \quad (4)$$

где $s_z = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix}$, $s_x = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 1 & 0 \end{pmatrix}$ — матрицы Паули, $p_0 = p + a$, $p_1 = p - a$, параметр a может быть назван параметром электронно-конформационной связи. Параметр h учитывает квантовый эффект „смешивания“ ветвей конформационного потенциала. Для упрощения мы пренебрегли изменением упругой константы при связывании канала с лигандом $K_0 = K_1 = K$. В дальнейшем мы используем безразмерную координату реакции Q , а значит, все параметры конформационного потенциала и гамильтониана модельного канала (Δ, h, p, K, a) будут иметь размерность энергии. Отметим, что ЭК модель вводит энергию как один из важнейших факторов, определяющих состояния ионного канала.

Два собственных числа матрицы гамильтониана \hat{H}

$$E_{\pm}(Q) = \frac{K}{2} Q^2 - pQ \pm \frac{1}{2} [(\Delta - aQ)^2 + h^2]^{1/2} \quad (5)$$

определяют две ветви конформационного потенциала. При $h = 0$ мы возвращаемся к классическим ветвям „adiaбатического“ потенциала $V_{\pm}(Q) = E_{\pm}(Q)$, которые связываются с конформационными потенциалами не связанного и связанного с лигандом состояний канала, которые условно можно назвать электронно-закрытым и электронно-открытым соответственно (рис. 3). Параболы $E_{\pm}(Q)$ имеют минимумы $E_{\pm}^{(0)} = -(p \mp a)^2/2K + \Delta$ при $Q_{\pm} = (p \mp a)/K$ соответственно и пересекаются в точке $Q_{int} = \Delta/a$. Очевидно, что „рабочая“ модель для описания процесса открытия/закрытия канала предполагает так называемое условие „бистабильности“ $Q_{<} < Q_{int} < Q_{>}$ ($Q_{<}, >$ — меньшее, большее из Q_{\pm}), когда оба минимума располагаются по разные стороны от точки пересечения ветвей. „Расстояние“ между минимумами $E_{\pm}^{(0)}$ линейно зависит от параметров Δ, p, a . Учет квантовых эффектов с $h \neq 0$ приводит к принципиальной модификации конформационного потенциала, когда вместо двух парабол мы приходим к двум новым изолированным ветвям, где точка пересечения ветвей, или точка двукратного вырождения, расщепляется с появлением высокоэнергетического метастабильного (переходного) состояния (см. вставку на рис. 3). Интересно, что „движение“ системы по новым ветвям фактически

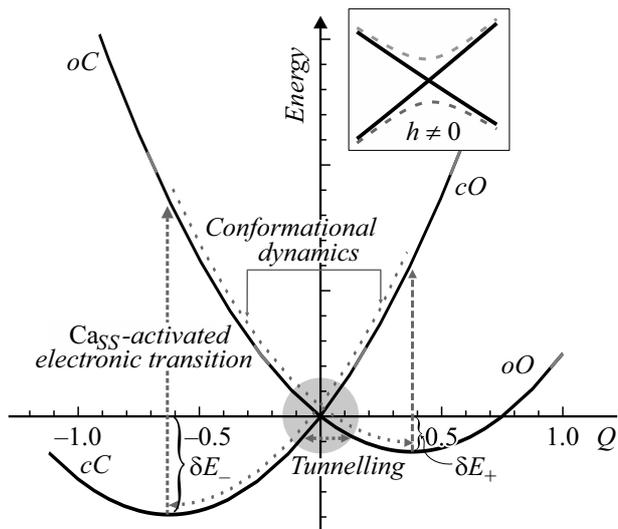


Рис. 3. Конформационный потенциал простой ЭК модели при $h = 0$ с глобальным минимумом для закрытого состояния. Величины δE_- , δE_+ — потенциальные барьеры, отсчитываемые от дна диабатических потенциалов. Вставка показывает квантовый эффект, учитываемый при отличном от нуля параметре h , с формированием верхнего метастабильного и нижнего неустойчивого (переходного) состояний.

связано с более или менее плавным процессом присоединения/отсоединения лиганда. Согласно квантовым представлениям в области пересечения ветвей, вероятность обнаружения системы в состоянии с присоединенным лигандом близка к 50%.

2.2. Электронно-конформационные преобразования в простой модели RyR-канала

Стрелками на рис. 3 обозначены основные пути электронно-конформационных преобразований, или динамики, в модельном канале. С физической точки зрения они включают индуцированные ионами кальция в диадном пространстве быстрые электронные франк-кондоновские переходы между ветвями конформационного потенциала (вертикальные стрелки), идущие без изменения координаты реакции. С химической точки зрения эти переходы представляют первую быструю стадию реакции присоединения (binding, $cC \rightarrow oC$) или отсоединения (unbinding, $oO \rightarrow cO$) ионов Ca^{2+} . Соответствующие вероятности переходов зависят как от концентрации $[Ca^{2+}]_{SS}$, так и энергии ионов Ca^{2+} , хотя не исключены и спонтанные переходы на нижележащие ветви. Пунктирные кривые стрелки вдоль ветвей конформационного потенциала указывают на медленную конформационную динамику (переходы $cO \rightarrow oO$ и $cC \rightarrow oC$). Горизонтальные стрелки вблизи точки пересечения ветвей указывают на квантовые туннельные переходы, идущие без изменения энергии. При

конечных температурах нужно учитывать температурно-активированные переходы через потенциальный барьер.

Таким образом, даже простейшая модель указывает на существование нескольких характерных времен, определяющих динамику канала, включая: 1) короткое время электронного перехода $cC \rightarrow oC$, зависящее от $[Ca^{2+}]_{SS}$; 2) время медленной конформационной релаксации $oC \rightarrow oO$; 3) короткое время электронного перехода $oO \rightarrow cO$, зависящее от $[Ca^{2+}]_{SS}$ („индуцированное кальцием отсоединение кальция“); 4) время медленной конформационной релаксации $cO \rightarrow cC$; 5) широкий спектр времен резонансного туннелирования; 6) времена термоактивационного перехода через барьер вблизи переходного состояния; 7) времена медленной конформационной релаксации от окрестности переходного состояния до минимумов oO и cC ; 8) время перехода между ветвями вблизи точки пересечения. Очевидно, что все эти времена регулируются внутриклеточными лигандами (АТФ, кофеин, Mg^{2+} , кальмодулин, FKBP12, ...), концентрацией $[Ca^{2+}]_{jSR}$ ионов кальция в люмене.

2.2.1. Конформационная динамика. Для описания медленной конформационной динамики мы используем уравнение движения Ланжевена [19] для ветвей V_{\pm} :

$$M\ddot{Q}_{\pm} = -\frac{\partial}{\partial Q} V_{\pm}(Q) - M\Gamma_{\pm}(Q)\dot{Q} + \gamma\sqrt{T}R(t), \quad (6)$$

где первое слагаемое в правой части описывает конформационную силу, второе — силу внутреннего трения с коэффициентом трения $\Gamma_{\pm}(Q)$, третье — тепловые флуктуации с параметром случайной силы γ . Эффективная масса канала M — эффективная масса ведущей конформационной моды, то есть величина порядка массы сегмента, ответственного за динамику основной дыхательной моды канала. Коэффициент внутреннего трения $\Gamma_{\pm}(Q)$ — эффективный параметр, аккумулирующий все эффекты „одномеризации“ многомерного конформационного потенциала [17,18]. $R(t)$ описывает дельта-коррелированный стационарный гауссовский процесс. Случайная сила определяет „внешнее“ трение. Отметим, что флуктуационно-диссипативная теорема [19] для силы эффективного внутреннего трения и внешней случайной силы, вообще говоря, не работает. Типичным приближением для температурных зависимостей параметров $\Gamma_{\pm}(Q)$ и γ является использование закона Аррениуса [18]:

$$\Gamma(T) = \Gamma_0 e^{\frac{E_{\Gamma}}{k_B T}}; \gamma(T) = \gamma_0 e^{\frac{E_{\gamma}}{k_B T}} \quad (7)$$

с энергиями активации E_{Γ} и E_{γ} соответственно.

2.2.2. Квантовое туннелирование. Обычно биологи, изучая массивные белки, обходятся без привлечения законов квантовой физики, считая ее уделом микроскопических атомных систем. Однако прогресс в

развитии экспериментальных методик в последние годы показал, что квантовые эффекты в биологии могут проявляться не только на уровне одноионного транспорта, но и в динамике наноскопических сегментов ионных каналов, в частности селективных фильтров, играющих принципиальную роль в функционировании каналов.

В работе [20] оценка вклада квантового туннелирования „тепловых“ ионов калия в бактериальном KcsA канале в проводимость дает величины порядка 10^5-10^{10} ions/s, что вполне согласуется с экспериментным значением $\sim 10^8$ ions/s. Чанси с коллегами [21] рассматривали квантовое туннелирование между закрытым и открытым состояниями натриевого канала, точнее наноскопического сегмента S4 α -helix с массой 2400 Da, и получили разумные значения характерного времени туннелирования в интервале от $1 \mu\text{s}$ до нескольких ms.

Учет квантовых эффектов расщепления, взаимодействия/смешивания мод, а также и туннелирования в окрестности точки пересечения ветвей конформационного потенциала является необходимым элементом простой ЭК модели.

В работе [10] для описания вероятности туннелирования было предложено использование упрощенного варианта формулы Гамова

$$P_{tun} = P_0 e^{-A_{tun} \Delta Q \sqrt{\Delta E}}, \quad (8)$$

где ΔQ — ширина, ΔE — высота энергетического барьера (рис. 3), а P_0 — эффективная частота попыток. Очевидно, что заметные величины вероятности туннелирования будут наблюдаться только непосредственно вблизи точки пересечения ветвей потенциала, где ΔE и ΔQ обращаются в нуль. Одним из основных кандидатов на объект туннелирования в RyR2-канале может служить $S6_{cyl}$ сегмент. Подчеркнем резонансный характер туннельного перехода, что делает его важным конкурентом традиционных энергозатратных переходов.

2.3. Регуляция RyR2-канала люменальным Ca^{2+} и АТФ

Цитозольный кальций Ca^{2+} рассматривается как основной физиологический активатор RyR2-канала, однако исследование изолированных каналов показало, что сам по себе цитозольный Ca^{2+} фактически является слабым активатором и не приводит к вероятностям открытия P_o более 0.5. Для максимальной активации канала необходимы микромолярные концентрации Ca^{2+} в присутствии дополнительного лиганда. Таким образом, хотя рост концентрации цитозольного Ca^{2+} и является триггером открытия RyR2-каналов сердечных клеток в физиологических условиях, но активация, достаточная для поддержания рабочего режима возбуждения-сокращения, требует синергетического эффекта действия Ca^{2+} и, по крайней мере, еще одного активирующего лиганда. *In situ* функционирование RyR2-канала регулируется различными физиологическими и фармакологическими

агентами, включая люменальный Ca^{2+} , АТФ, Mg^{2+} , кальмодулин, FKBP12 и такими клеточными процессами, как окисление, фосфорилирование и др. Большинство этих лигандов/регуляторов связываются в большой цитоплазматической области RyR2-канала и участвуют в аллостерической регуляции процесса открытия/закрытия.

Накопление Ca^{2+} в люмене саркоплазматического ретикулума является движущей силой, способствующей истечению Ca^{2+} из люмена в цитозоль. В настоящее время отсутствует единое понимание механизма регуляции RyR2-канала люменальным Ca^{2+} . Этот механизм *in vivo* может включать Ca^{2+} -чувствительные центры как в люменальной, так и в цитозольной части канала, причем их роль может зависеть от экспериментальных условий.

Кальций поступает в диадное пространство двумя путями: через каналы *L*-типа на сарколемме и из люменов *SR* через RyR2-каналы. Активация RyR2-каналов люменальным кальцием Ca_{jSR} может быть приписана либо Ca^{2+} , проходящему к высокочувствительным активационным центрам цитоплазматической части RyR2-каналов, либо Ca^{2+} -регуляторным центрам на люменальной стороне RyR2-каналов [22,23]. Большая часть экспериментальных фактов согласуется скорее с люменальным механизмом [2], предполагающим существование люменальных Ca^{2+} -сенсоров, контролирующих функции RyR2-канала путем направленного изменения его конформации для увеличения вероятности открытия. В отличие от Ca_{SS} , активирующего непосредственный отклик RyR2-каналов, люменальные Ca^{2+} -сенсоры обеспечивают непрерывную регуляцию функциональной активности хранилища кальция, связывая содержание Ca^{2+} с активностью RyR2-каналов [2].

Люменальные Ca^{2+} -сенсоры в RyR2-каналах связываются с люменальными белками, кальцеквестрином, триадином и джанктином, которые и являются модуляторами активности RyR2-канала. Кальцеквестрин известен своей способностью к связыванию ионов Ca^{2+} с изменением конформации. Триадин и джанктин обеспечивают механизм передачи конформационных напряжений от кальцеквестрина RyR2-каналу, регулируя, таким образом, его проводимость. Именно конформационные напряжения, или эффективное давление, представляются основным ингредиентом в механизме отклика RyR2-канала на люменальную Ca^{2+} концентрацию.

Таким образом, в отличие от прямого „электронного“ эффекта Ca_{SS} эффект влияния Ca_{jSR} на RyR2-канал, скорее всего, носит „механический“ характер, через конформационное давление на RyR2-канал. Этот эффект может быть естественным образом учтен в ЭК модели, если предположить, что параметр эффективного давления в эффективном конформационном потенциале RyR2-канала является функцией Ca_{jSR} . Мы предполагаем, что параметр p растёт с ростом люменальной Ca^{2+}

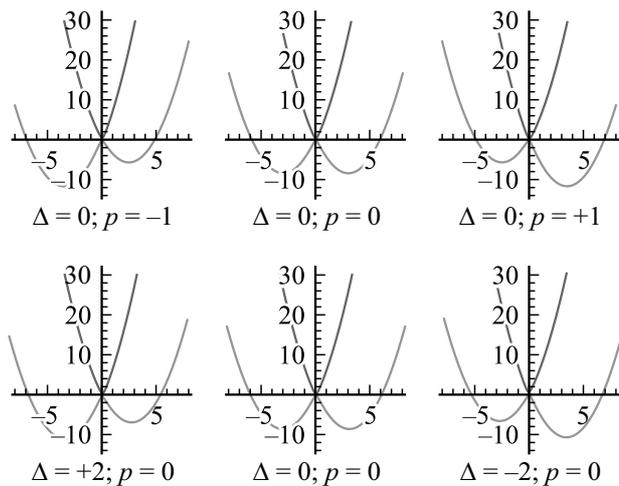


Рис. 4. Конформационные потенциалы простой ЭК модели при $K = 2$, $a = 6$, $h = 0.9$. Вверху: $\Delta = 0$, $p = -1, 0, +1$; внизу: $p = 0$, $\Delta = +2, 0, -2$.

концентрации согласно обычному закону Хилла [6–8]:

$$p([\text{Ca}_{jSR}]) = \left(2 \frac{[\text{Ca}_{jSR}]^n}{[\text{Ca}_{jSR}]^n + K_{Ca}^n} - 1 \right) p_0; \quad -p_0 \leq p \leq +p_0, \quad (9)$$

где K_{Ca} — „полумаксимальное“ значение: $p(K_{Ca}) = 0$, n — коэффициент Хилла. Изменение p в интервале $(-p_0, +p_0)$ ведет к принципиальной перестройке ветвей конформационного потенциала с переходом от стабилизации закрытого состояния к стабилизации открытого состояния канала (рис. 4).

2.3.1. Аллостерическая модель АТФ-регуляции RyR-канала.

Цитоплазматическая область RyR-канала представляет собой своеобразную структурную платформу для связывания различных внутриклеточных лигандов, включая АТФ, которые модулируют функционирование канала. Первое исследование, демонстрирующее связь между цитозольной АТФ и вероятностью открытия P_o RyR-канала, было выполнено Кермодом с соавторами [24]. В присутствии активирующего цитозольного Ca^{2+} АТФ-активация канала была положительным кооперативным процессом с хилловским коэффициентом 1.5. Анализ времен жизни событий продолжительностью $> 1 \text{ ms}$ показал, что в присутствии цитозольного Ca^{2+} АТФ приводит к росту как частоты, так и длительности открытий канала. Авторы пришли к заключению, что АТФ должна связываться как с закрытым, так и открытым состояниями канала.

АТФ является очень активным активатором RyR-каналов, однако структурный механизм регуляции остается невыясненным из-за отсутствия данных о положении и молекулярном составе соответствующих связывающих центров, пространственной связи с ион-

проводящей порой канала и природы конформационных изменений в процессе связывания АТФ с каналом. В любом случае очевидно, что прямое связывание АТФ влияет на функционирование канала путем передачи энергии связывания на конформационные изменения канала, которые включают междоменные взаимодействия. Замечено, что АТФ связывается сильнее с мономерами RyR канала в открытом, чем в закрытом состоянии, стабилизируя, таким образом, открытое состояние [25].

Синергетический эффект люминального, цитозольного Ca^{2+} , и цитозольной АТФ на активацию изолированных RyR2-каналов в липидном бислое рассматривался в работе Тенцеровой с соавторами [25]. Низкий уровень люминального Ca^{2+} (1 mM) приводил к существенному росту сродства канала к АТФ, но без существенного роста активации.

Повышение концентрации люминального Ca^{2+} заметно увеличивало влияние АТФ на активацию канала без влияния на сродство к АТФ. Концентрации цитозольного Ca^{2+} , близкие к диастолическим ($< 500 \text{ nM}$), приводили к усилению эффекта люминального Ca^{2+} . Эффект влияния люминального и цитозольного Ca^{2+} может быть объяснен как результат действия аллостерических взаимодействий АТФ с RyR2-каналом.

В рамках простой ЭК модели естественно предположить, что основной эффект цитозольной АТФ сводится к стабилизации открытого состояния канала благодаря росту энергетического параметра Δ . Другими словами, зависимость $\Delta([\text{ATP}])$ должна быть такой, чтобы рост концентрации АТФ сопровождался ростом параметра $\Delta([\text{ATP}])$. Отметим, что ЭК модель предсказывает подобие эффектов влияния АТФ (через влияние на параметр $\Delta([\text{ATP}])$) и люминального кальция (через влияние на параметр эффективного давления p) на функционирование канала, так как оба параметра влияют на конформационный потенциал аналогичным образом (рис. 4).

3. Обобщение простой ЭК модели

Несмотря на многие достоинства, простая ЭК модель дает слишком упрощенное представление о RyR-канале, в частности, это касается не только „одномеризации“ конформационного потенциала, но и использования при этом примитивного гармонического приближения, которое обычно работает только в непосредственной низкоэнергетической окрестности основного состояния системы. Выше мы фактически рассматривали существование у RyR-канала единого центра связывания с Ca^{2+} , хотя тетрамерная структура канала однозначно указывает на наличие как минимум четырех центров связывания.

Тем не менее модельный подход, заложенный в основании ЭК модели, допускает ее обобщение, хотя и ценой неизбежного введения новых параметров.

Так, рис. 5 демонстрирует возможное усложнение гармонической модели введением ангармонического од-

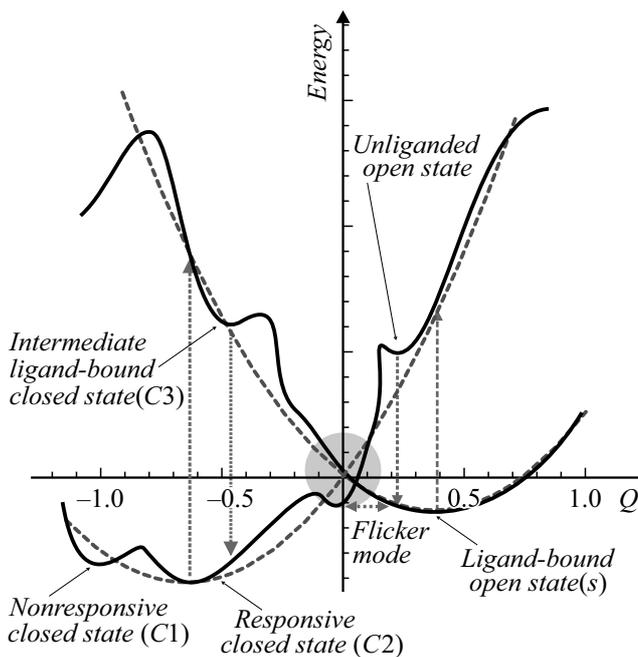


Рис. 5. Предполагаемый конформационный потенциал в реалистической ЭК модели hRyR2-канала, соответствующий марковской схеме работы [5] (см. детали в тексте).

номерного конформационного потенциала с появлением новых метастабильных состояний как в исходном (закрытом), так и в Ca²⁺-связанном (открытом) состояниях, которые соответствуют номенклатуре состояний, введенной в работе [5]. Это два типа исходных закрытых состояний C1/C2 (responsive/nonresponsive) в отсутствие Ca²⁺-связывания, „промежуточное“ закрытое состояние C3 Ca²⁺-связанного канала, открытое состояние в отсутствие Ca²⁺-связывания (unliganded open state). Схема рис. 5 указывает на возможную связь так называемой „фликер“ моды [5] с туннельным переходом вблизи переходного состояния. В целом эта схема указывает на возможность сопоставления конформационному потенциалу определенной марковской схемы с ясным физическим представлением о характере переходов и, наоборот, анализ марковской схемы может дать важную информацию о характере конформационного потенциала.

Учет тетрамерной структуры RyR-канала и наличия четырех центров Ca²⁺-связывания может быть проведен и в рамках простой ЭК модели, но путем введения дополнительных ветвей конформационного потенциала, соответственно различным конфигурациям заполнения *n* ионами Ca²⁺ (*n* = 0, 1, 2, 3, 4) четырех центров связывания. При этом нужно иметь в виду наличие четырех эквивалентных конфигураций при *n* = 1 и 3, четырех эквивалентных конфигураций ближайших и двух следующих за ближайшими (вторых) соседей при *n* = 2. В общем случае мы будем иметь 16 ветвей конформационного потенциала — две невырожденные ветви для

n = 0 и 4, две четырехкратно вырожденных ветви для *n* = 1 и 3, одну четырехкратно вырожденную и одну двукратно вырожденную ветви для *n* = 2. Очевидно, что в общем случае нужно учитывать еще и взаимодействие ионов Ca²⁺ в „квадрате“ из четырех центров связывания. Энергию межцентрового взаимодействия Ca²⁺–Ca²⁺ можно представить как

$$E_{int} = \sum_{i \neq j} J_{ij} n_i n_j, \tag{10}$$

где *n_{i,j}* = 0; 1 — числа заполнения *i, j*-центра связывания ($\sum_i n_i = n$), *J_{ij}* — энергия взаимодействия Ca_{*i*}²⁺–Ca_{*j*}²⁺, *J_{ij}* = *J*₁ для ближайших и *J_{ij}* = *J*₂ для вторых соседей. Энергия взаимодействия принимает значения 0, 0, 2*J*₁ + *J*₂, 4*J*₁ + 2*J*₂ для *n* = 0, 1, 3, 4 соответственно, тогда как для *n* = 2 энергия равна либо *J*₁, либо *J*₂ в зависимости от конфигурации ближайших, либо вторых соседей соответственно. С учетом электростатического взаимодействия Ca²⁺–Ca²⁺ следует ожидать положительных значений энергий взаимодействия с *J*₁ > *J*₂. Отметим, что весь предыдущий анализ не учитывает квантовых эффектов транспорта ионов Ca²⁺ между различными центрами связывания. Энергия ветвей потенциала может быть представлена как обобщение (3) в виде

$$E_n(Q) = E_n(Q = 0) - p(n)Q + \frac{K(n)}{2} Q^2 + a(n)Q, \tag{11}$$

где

$$E_n(Q = 0) = \Delta n + \sum_{i \neq j} J_{ij} n_i n_j, \tag{12}$$

причем первое слагаемое представляет аддитивный, а второе — кооперативный вклад в „затравочную“ (*Q* = 0) энергию канала. Мы предполагаем единую координату реакции для всех ветвей потенциала.

Таким образом, в классическом приближении мы приходим к выводу о существовании шести минимумов общего конформационного потенциала, соответствующих в зависимости от величины параметров типа Δ , *p*, *K*, а шести (мета)стабильным открытым или закрытым состояниям канала. Естественно, что этот вывод нужно учитывать при выборе той или иной марковской схемы. Кроме того, учет квантовых эффектов взаимодействия ветвей приведет к появлению дополнительных метастабильных состояний вблизи точек пересечения ветвей.

На рис. 6 представлены пять ветвей „пробного“ конформационного потенциала, полученного при простейшем предположении *E_n* = 0, но при условии *a*(*n*) ∝ *n*. В этом случае мы получаем три варианта закрытых состояний, два из которых соответствуют каналу, связанному с одним или даже двумя ионами Ca²⁺, одному состоянию с минимумом при *Q* = 0, соответствующему слабо проводящему состоянию канала, и, наконец, одному рабочему открытому состоянию, соответствующему связыванию канала с четырьмя ионами Ca²⁺. Очевидно, что этот модельный вариант не описывает

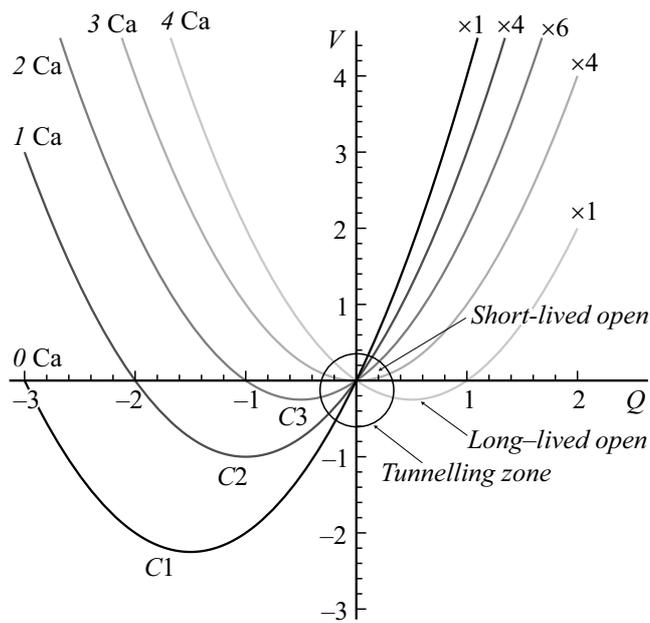


Рис. 6. Пять ветвей предполагаемого конформационного потенциала в обобщенной ЭК модели RyR2-канала, предполагающей учет четырех центров связывания с единой координатой реакции Q и без учета эффектов взаимодействия $Ca^{2+}-Ca^{2+}$. Модельный вариант указывает на устойчивое открытое состояние с четырьмя связанными ионами Ca^{2+} .

реально наблюдаемое для hRyR [5] значение коэффициента Хилла ~ 2 , а также эффект ингибирования канала при высоких mM -концентрациях $[Ca^{2+}]_{cyl}$. Однако это расхождение может быть устранено в рамках также простой, но более реалистичной модели, учитывающей, в частности, тот факт, что энергия взаимодействия $Ca^{2+}-Ca^{2+}$ при $n = 2$ меньше, чем при $n = 3$ и 4 . На рис. 7 представлены шесть, в общем случае вырожденных, ветвей пробного конформационного потенциала, рассчитанного при значениях E_n и $a(n)$, приведенных на нижнем графике. Долгоживущее открытое состояние канала соответствует при этом связыванию с двумя ионами Ca^{2+} , образующими пару вторых соседей, хотя активация может идти через промежуточное состояние со связыванием одиночного иона Ca^{2+} .

4. Двухмодовая модель RyR-канала

Как отмечено во Введении структурные данные [3] указывают на сложный характер конформационных изменений цитоплазматической части RyR-канала в процессе открытия, в частности, важной роли „дыхательно-вращательной“ или своеобразной винтовой моды движения периферии, образованной Helical-доменом, SPRY-доменами и доменами P1, P2.

Такое сложное конформационное преобразование, наблюдаемое, например, для ирисовой диафрагмы фотообъектива, не может быть описано в рамках одномерной модели с одной „дыхательной“ координатой реакции Q

и требует по крайней мере двумерного описания с введением дополнительной вращательной степени свободы, описываемой некоторым углом поворота Ω . Представим конформационную энергию канала с учетом конформационной координаты Q , связанной с радиусом поры канала, и угла поворота Ω в виде

$$V(Q, \Omega) = \frac{K}{2} Q^2 + \kappa_1 \sin^2 \Omega + \kappa_2 \sin^4 \Omega - pQ \sin \Omega, \tag{13}$$

где первое слагаемое представляет собой гармоническое приближение для энергии конформационной моды Q ,

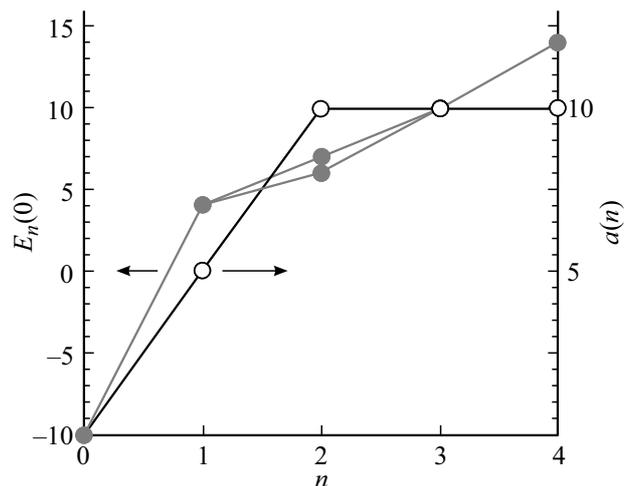
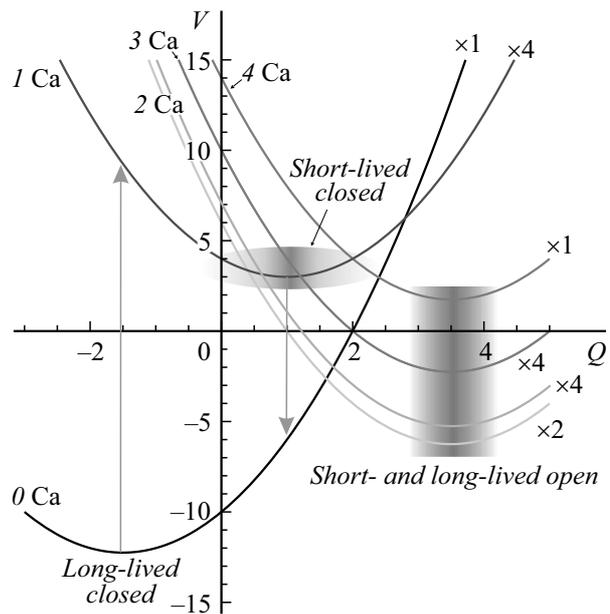


Рис. 7. Шесть ветвей предполагаемого конформационного потенциала в обобщенной ЭК модели RyR2-канала, предполагающей учет четырех центров связывания с единой координатой реакции Q и учетом эффектов взаимодействия $Ca^{2+}-Ca^{2+}$. Модельный вариант указывает на устойчивое открытое состояние с двумя связанными ионами Ca^{2+} . Внизу представлена модельная зависимость от числа связанных ионов Ca^{2+} затравочной ($Q = 0$) энергии и константы электронно-конформационного взаимодействия.

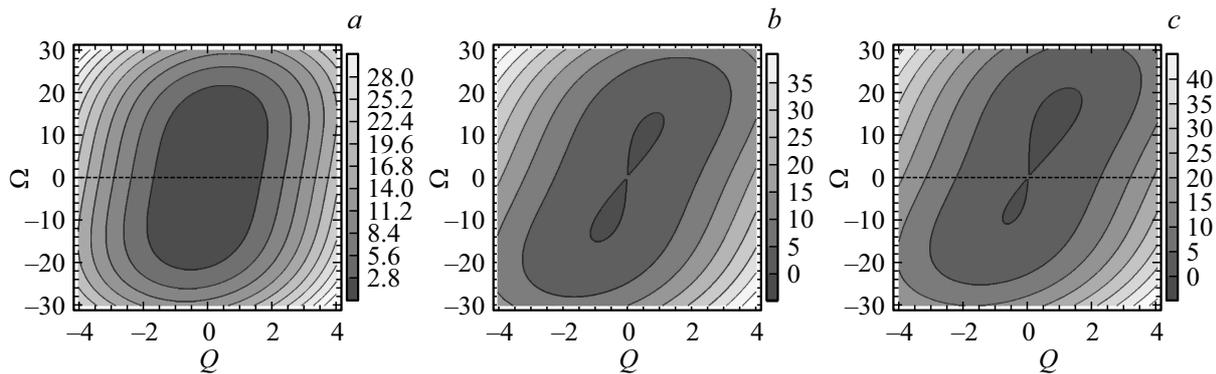


Рис. 8. Контурный график потенциальной энергии $V(Q, \Omega)$ при $K = 2 \text{ meV/\AA}^2$, $\kappa_1 = 2.1 \text{ meV}$, $\kappa_2 = 150 \text{ meV}$: a — $p = -2.8 \text{ meV/\AA}$, $p^2 < 2\kappa_1 K$; b — $p = -7 \text{ meV/\AA}$, $p^2 > 2\kappa_1 K$; c — параметры, аналогичные b , но с учетом дополнительного кубического слагаемого. Пунктирными линиями обозначен конформационный потенциал $V(Q, 0) = \frac{K}{2} Q^2$. Углы Ω указаны в градусах, координата Q — в ангстремах.

а второе и третье слагаемые представляют энергию вращения с $\kappa_2 > 0$, что обеспечивает необходимую жесткость вращательной (торсионной) моды. Четвертое слагаемое описывает взаимодействие дыхательной и торсионной мод. В основном состоянии

$$Q_0 = \frac{p}{K} \sin \Omega, \tag{14}$$

тогда как для Ω мы имеем несколько возможных значений:

$$1) \sin 2\Omega = 0, \quad 2) \sin \Omega = \pm \sqrt{\left(\frac{p^2}{2K} - \kappa_1\right) / 2\kappa_2}, \tag{15}$$

если

$$\kappa_1 \leq \frac{p^2}{2K} \leq \kappa_1 + 2\kappa_2. \tag{16}$$

Контурный график потенциальной энергии $V(Q, \Omega)$ на рис. 8 демонстрирует три различные реализации механизма взаимодействия дыхательной и торсионной мод. Вариант, представленный на рис. 8, a при $p = -2.8 \text{ meV/\AA}$, $p^2 < 2\kappa_1 K$ соответствует потенциальной энергии с единственным минимумом при $Q = 0$ и $\Omega = 0$. Вариант, представленный на рис. 8, b , при $p = -7 \text{ meV/\AA}$, $p^2 > 2\kappa_1 K$ соответствует бифуркации с двумя эквивалентными по энергии минимумами, но соответствующим противоположным знакам как Q так и Ω . Минимумы могут быть приписаны закрытому и открытому состояниям канала соответственно. Энергетическая эквивалентность минимумов пропадает, если мы учтем в потенциальной энергии $V(Q, \Omega)$ нечетный кубический член $\propto \sin^3 \Omega$. Рис. 8, c демонстрирует появление асимметрии потенциала при включении кубического слагаемого — $25 \sin^3 \Omega$ в потенциальную энергию $V(Q, \Omega)$, представленную на рис. 8, b . Естественно, что все параметры двухмодовой потенциальной энергии $V(Q, \Omega)$ будут зависеть от характера Ca^{2+} -связывания. В частности, можно предсказать возможность торсионной неустойчивости как закрытого, так и открытого состояний канала. Такая ситуация будет реализовываться

в случае, если некоторые минимумы в одномерной потенциальной энергии $V(Q)$ будут фактически седловыми точками с учетом ортогональной торсионной моды [17]. Естественно, что в такой ситуации учет ортогональной моды с помощью введения внутреннего трения в процедуру одномеризации вряд ли будет адекватно отражать реальную ситуацию.

Заключение

В работе изложены основные представления простой электронно-конформационной модели рианодиновых рецепторов (RyR-каналов) сердечной клетки, а также ее обобщение с учетом реальной тетрамерной структуры RyR-каналов и сложного двухмодового характера конформационных преобразований, сопровождающих процесс открытия канала. В результате разработана перспективная методика описания сложной динамики RyR-каналов, которая позволяет, с одной стороны, дать биофизическое обоснование традиционным марковским кинетическим моделям описания динамики RyR-каналов, а с другой стороны, дает основу для описания и предсказания эффектов влияния различных лигандов, а также таких внешних факторов как температура [26,27], фазовые переходы в липидных бислоях на функционирование RyR-каналов. Даже в рамках простой биофизически обоснованной ЭК модели уже получен ряд новых результатов, включая модель конформационного взаимодействия RyR-каналов [7,8], модель высвобождающей единицы (BE) [10–12], которая позволила объяснить формирование и свойства спонтанного колебательного режима BE как в клетке водителей сердечного ритма при нормальных физиологических условиях, так и в рабочем кардиомиоците при перегрузке люмена СР кальцием. Исследована изолированная Ca^{2+} высвобождающая единица в клетках водителя сердечного ритма, или так называемые Ca^{2+} -„часы“ [10,12] и их взаимодействие с мембранным осциллятором [28]. Впервые обнаружен

и исследован эффект случайной остановки осцилляций Ca^{2+} „часов“ при достаточно сильном взаимодействии между RyR-каналами. В целом ЭК модель предлагает новый взгляд на основные механизмы, управляющие потоками внутриклеточного Ca^{2+} , и может служить отправной точкой для дальнейших исследований физических принципов формирования регулярной динамики сердечных клеток и ее нарушений *in vivo* и *in vitro*.

Автор хотел бы поблагодарить М.П. Филиппева, О.Э. Соловьеву, А.М. Рывкина, Н.М. Зорина, Б.Я. Япарова за плодотворное сотрудничество, Р. Ситсапесан (R. Sitsapesan), К. Витчас (K. Witschas), А. Заградникову (A. Zahradnikova) и И. Заградника (I. Zahradnik) за полезные дискуссии.

Работа выполнена при поддержке Программы 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006 и проектов № 2277 и № 5719 Министерства образования и науки Российской Федерации.

Список литературы

- [1] Bers D.M. // Nature. 2002. Vol. 415. P. 198–205.
- [2] Györke S., Carnes C. // Pharmacol. Ther. 2008. Vol. 119. P. 340–354.
- [3] Wei Peng, Huaizong Shen, Jianping Wu, Wenting Guo, Xiaojing Pan, Ruiwu Wang, Wayne Chen S.R., Nieng Yan. // Science 2016. 10.1126/science.aah5324
- [4] Saftenu E., Williams A.J., Sitsapesan R. // Biophys. J. 2001. Vol. 80. P. 2727–2741.
- [5] Mukherjee, Saptarshi, Lowri Thomas N., Williams A.J. // J. Gen. Physiol. 2012. Vol. 140. P. 139–158.
- [6] Moskvina A.S., Philipiev M.P., Solovyova O.E., Markhasin V.S. // Dokl. Biochem. Biophys. 2005. Vol. 400. P. 32–37.
- [7] Moskvina A.S., Philipiev M.P., Solovyova O.E., Markhasin V.S. Biophysical adaptation of the theory of photo-induced phase transition: model of cooperative gating of cardiac ryanodine receptors. J. Phys. Conf. Ser. 2005. Vol. 21. P. 195–200.
- [8] Moskvina A.S., Philipiev M.P., Solovyova O.E., Kohl P., Markhasin V.S. // Prog. Biophys. Mol. Biol. 2006. Vol. 90. P. 88–103.
- [9] Автореф. канд. дис. Филиппев М.П. Электронно-конформационные модели кальций-высвобождающей системы клеток сердечной мышцы. 05.13.18: 01.04.07. Екатеринбург, 2007.
- [10] Moskvina A.S., Ryvkin A.M., Solovyova O.E., Markhasin V.S. // JETP Lett. 2011. Vol. 93. P. 403–409.
- [11] Moskvina A.S., Ryvkin A.M., Solovyova O.E., Markhasin V.S. // Dokl. Biol. Sciences. 2012. Vol. 444. P. 162–168.
- [12] Автореф. канд. дис. Рывкин А.М. Исследование динамики кальция в клетках сердечной мышцы на основе электронно-конформационной модели рианодин-чувствительных кальциевых каналов. 03.01.02. Пушкино, 2014.
- [13] Bialek W., Goldstein R.F. // Physica Scripta. 1986. Vol. 34. P. 273–282.
- [14] Noid W.G. // J. Chem. Phys. 2013. Vol. 139. P. 090901–090925.
- [15] Ha-Duong Tap. Coarse-Grained Models of the Proteins Backbone Conformational Dynamics / Ed. by: Han K.L., Zhang X., Yang M. J. Protein conformational dynamics. Book Series: Advances in Experimental Medicine and Biology. 2014. Vol. 805. P. 157–169.
- [16] Рубин А. Биофизика: В 2-х кн. Учеб. для биол. спец. вузов. Кн. 1. Теоретическая биофизика. М.: Высш. шк., 1987.
- [17] Wales D.J. J. Chem. Phys. 2015. Vol. 142. P. 130901–130912.
- [18] Rauscher A.A., Simon Z., Szollosi G.J., Graf L., Derenyi I., Malnasi-Csizmadia // FASEB J. 2011. Vol. 25. P. 2804–2813.
- [19] Coffey W.T., Kalmykov Yu.P., Waldron J.T. 2012. The Langevin Equation World Scientific Series in Contemporary Chemical Physics. Third Edition. 852.
- [20] Vaziri A., Plenio M.B. // New J. Phys. 2010. Vol. 12. P. 085001–085010.
- [21] Chancey C.C., George S.A., Marshall P.J. // J. Biol. Phys. 1992. Vol. 18. P. 307–321.
- [22] Sitsapesan R., Williams A.J. // J. Membr. Biol. 1994. Vol. 137. P. 215–226.
- [23] Sitsapesan R., Williams A.J. // J. Membr. Biol. 1997. Vol. 159. P. 179–185.
- [24] Kermode H., Williams A.J., Sitsapesan R. // Biophys. J. 1998. Vol. 74. P. 1296–1304.
- [25] Tencerova B., Zahradnikova A., Gaburjakova J., Gaburjakova M. // J. Gen. Physiol. 2012. Vol. 140. P. 93–108.
- [26] Moskvina A.S., Iaparov B.I., Ryvkin A.M., Solovyova O.E., Markhasin V.S. // JETP Lett. 2015. Vol. 102. N 1. P. 62–68.
- [27] Москвин А.С., Япаров Б.Я., Рывкин А.М., Соловьева О.Э. // Биофизика. 2016. Т. 61. Вып. 4. С. 726–735.
- [28] Рывкин А.М., Зорин Н.М., Москвин А.С., Соловьева О.Э., Мархасин В.С. // Биофизика. 2015. Т. 60. Вып. 6. С. 1138–1145.