

УДК 577.25

МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИГАНДОВ В “КИСЛОТНОМ КАРМАНЕ”
ПРОТОНАКТИВИРУЕМОГО ИОННОГО КАНАЛА ASIC1a

В. С. Коркош, член-корреспондент РАН Д. Б. Тихонов*

Поступило 08.10.2018 г.

Осуществили докинг ряда лигандов ионного канала ASIC1a, оказывающих потенцирующее или ингибирующее действие за счёт стабилизации открытого и закрытого состояний. Впервые показали, как направленность действия может зависеть от трёхмерной структуры лиганда. Потенциаторы и ингибиторы по-разному взаимодействуют с аминокислотными остатками так называемого кислотного кармана, где происходит связывание протонов. Полученные результаты открывают возможность для теоретического дизайна новых фармакологических агентов.

Ключевые слова: гомологическое моделирование, лиганд-рецепторные взаимодействия, потенциация, ингибирование, ионные каналы.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524852234-237>

Протонактивируемые ионные каналы семейства ASIC (acid-sensing-ion-channels) можно обнаружить во многих типах нейронов ЦНС позвоночных. Они участвуют в синаптической передаче и синаптической пластичности и вовлечены в реализацию таких системных функций, как память и обучение, страх и депрессия. Их роль обнаруживается также при изучении механизмов наркотической зависимости и при исследовании патогенеза ряда психических заболеваний [1].

Среди модуляторов ионного канала ASIC1a, принадлежащего к указанному семейству, есть синтетические соединения, эндогенные органические вещества и катионы, а также ряд пептидных токсинов из компонентов природных ядов [1]. Основные типы модуляции состоят в блокаде поры канала, в сдвиге зависимости от pH активации и десенситизации в кислотную или основную сторону. Одни и те же соединения могут проявлять несколько типов активности без корреляции между ними, что говорит о наличии нескольких независимых мест связывания.

Несмотря на обширность накопленного экспериментального материала, до последнего времени было невозможно дать наблюдаемым явлениям структурное объяснение, поскольку отсутствовали структуры высокого разрешения для критически важных состояний канала: закрытого, открытого и десенситизированного. Такая возможность появи-

лась лишь в 2018 г. в связи с публикацией последней недостающей структуры — закрытого канала [2].

Ключевым для активации участком является так называемый кислотный карман (acidic pocket) — скопление кислых аминокислот в заглублённом участке внеклеточного домена. Внутри этого “кармана” три пары аминокислот (Асп²³⁸–Асп³⁵⁰, Глу²³⁹–Асп³⁴⁶ и Глу²²⁰–Асп⁴⁰⁸) находятся на близком расстоянии. Электростатическое отталкивание между отрицательными зарядами боковых цепей этих пар аминокислот удерживает “кислотный карман” в развёрнутом состоянии, канал при этом закрыт. При закислении внешней среды между парами карбоксилатов связываются протоны, что приводит к стягиванию кармана в более тесную структуру. Это вызывает конформационные изменения в трансмембранном домене, приводящие к открытию канала. Структуры “кислотного кармана” в открытом и десенситизированном состояниях практически идентичны [3–5]. Таким образом, вероятно связывание в “кислотном кармане” модуляторов активации, но не модуляторов десенситизации.

В настоящей работе на основании описанных выше структур мы разработали гомологические модели канала ASIC1a крыс в открытом и закрытом состояниях (рис. 1), поскольку большинство доступных экспериментальных данных по связыванию лигандов было получено именно на этом объекте. Модели были оптимизированы методом Монте-Карло с минимизацией энергии по методике, описанной в работе [6]. Далее для каждой модели мы произвели докинг (рис. 1) трёх потенциаторов активации (ИЭМ-2044 [7]), гистамина [8], соеди-

Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской Академии наук, Санкт-Петербург
*E-mail: denistikhonov2002@yahoo.com

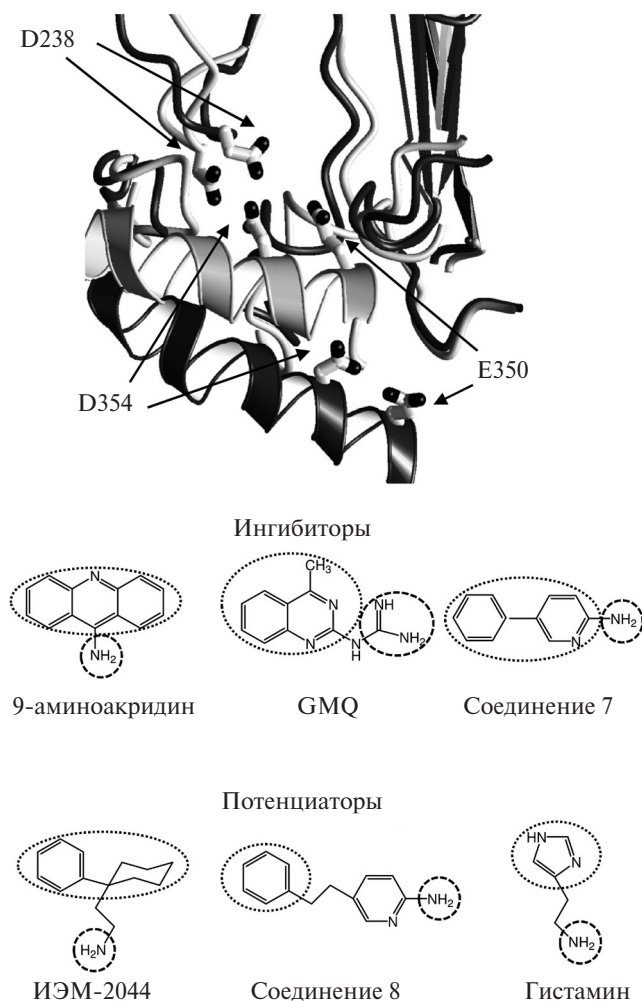


Рис. 1. Молекулярные модели ASIC1a в открытом (субъединицы показаны светлым) и закрытом (субъединицы показаны тёмным) состояниях. В наложении структур “кислотного кармана” видно существенное смещение ряда ключевых аминокислотных остатков. В структурах лигандов показаны заряженные группы и гидрофобные/ароматические группы. В молекулах ингибиторов они соединены непосредственно, а в молекулах потенциаторов — через гибкие линкеры.

нения 8 из работы [9]) и трёх ингибиторов активации (GMQ [10]), 9-аминоакридина [11] и соединения 7 из работы [9]. Проведённый нами структурно-функциональный анализ показал, что в молекулах ингибиторов заряженная группа непосредственно прилегает к плоскому ароматическому ядру, а в молекулах потенциаторов эти группировки соединены гибким линкером (рис. 1). Процедура докинга, выполненная, как описано в работе [6], выявила ансамбли возможных посадок лигандов в “кислотный карман” и соответствующие им наборы аминокислотных остатков, взаимодействующих с лигандами.

Далее мы провели анализ энергетики и частоты встречаемости взаимодействий между лигандами

и отдельными остатками в “кислотном кармане”, который выявил ряд закономерностей. Согласно нашим расчётам, существенное взаимодействие с остатком His174 наблюдается только для потенциаторов и только в модели открытого канала (рис. 2). Этот аминокислотный остаток расположен у входа в “кислотный карман”. Ароматические кольца потенциаторов образуют стэкинг-контакт с боковой цепью гистидина. При этом их аминогруппы связываются с остатками Asp350 и Glu354, принадлежащими соседней субъединице (рис. 3). Требуемая для такой посадки лигандов комплементарность к месту связывания высокоспецифична. В модели закрытого канала расстояние между His174 и парой Asp350 и Glu354 значительно больше, что не позволяет лиганду связываться с ними одновременно. Взаимное расположение His174 и пары Asp350 и Glu354 в открытом канале таково, что для одновременного связывания требуются вполне определённая взаимная ориентация и расстояние между ароматическим кольцом лиганда и его аминогруппой. Такими характеристиками обладают потенциаторы, но не ингибиторы (рис. 1). Необходимо также отметить, что остатки His174 и Asp350 специфичны для ASIC1a, а рассматриваемые потенциаторы обладают селективным действием именно на эти каналы. Таким образом, исходя из сопоставления модельных расчётов с экспериментальными данными можно

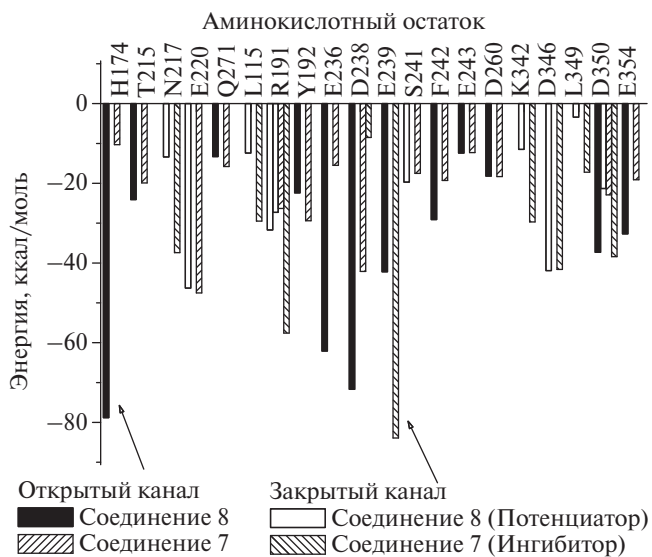


Рис. 2. Примеры профилей взаимодействий потенциаторов и ингибиторов с отдельными аминокислотными остатками в открытом и закрытом канале согласно проведённым расчётам (с учётом частоты встречаемости контакта). Стелками показаны обнаруженные уникальные точки связывания потенциатора в открытом канале и ингибитора в закрытом канале.

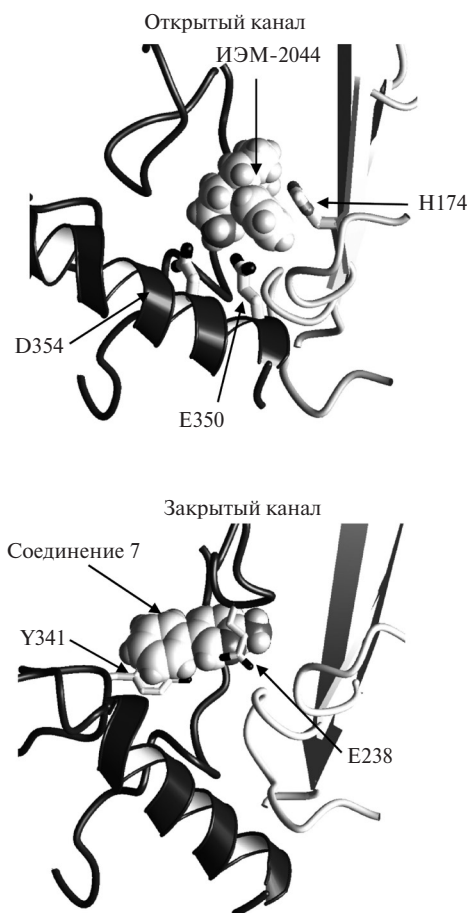


Рис. 3. Предлагаемые моды связывания потенциатора (ИЭМ-2044) и ингибитора (соединение 7) с моделями открытого и закрытого ASIC1a соответственно. Показаны ключевые аминокислотные остатки, участвующие в связывании этих лигандов.

предложить механизм потенцирующего действия, который состоит в стягивании His174 и пары Asp350 и Glu354, что приводит к стабилизации открытого состояния.

При анализе возможных посадок в “кислотный карман” лигандов, оказывающих ингибирующее действие, также удалось найти специфическое связывание, способное стабилизировать закрытое состояние канала (рис. 2). При переходе между закрытым и открытым состояниями меняется конформация петли, в которой находятся остатки Asp238 и Glu239. В закрытом состоянии плоские молекулы антагонистов образуют стэкинг-взаимодействие с остатком Tyr341, в то время как их заряженные группы связываются с Glu239 (рис. 3). Наши расчёты показывают, что такой тип взаимодействия возможен только для закрытого состояния и только для плоских молекул антагонистов. Исходя из результатов расчётов, мы предполагаем, что именно данный тип связывания ответствен за ингибирующее действие.

Характерной чертой действия как потенциаторов, так и ингибиторов ASIC1a рассматриваемого типа является параллельный сдвиг активационной зависимости. Иными словами, при насыщающей концентрации протонов в среде действие лигандов отсутствует. Найденные нами вероятные моды связывания агонистов и антагонистов полностью соответствуют данному механизму. В каждом случае положительно заряженная группа лиганда взаимодействует с отрицательно заряженным аминокислотным остатком. При протонировании этих остатков в условиях низких значений pH лиганды должны вытесняться протонами.

Таким образом, в нашей работе на основании современных данных о строении ASIC1a в разных функциональных состояниях впервые сделано предсказание вероятных мест связывания потенциаторов и ингибиторов этих каналов и предложен конкретный молекулярный механизм их действия. Результаты моделирования создают предпосылки для дальнейшей экспериментальной работы с использованием методов молекулярной биологии (точечные мутации предложенных точек связывания), а также для разработки и тестирования новых химических соединений.

Источник финансирования. Работа поддержана грантом РНФ 16–14–00122.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baron A., Lingueglia E. // *Neuropharmacology*. 2015. V. 94. P. 19–35.
2. Yoder N., Yoshioka C., Gouaux E. // *Nature*. 2018. V. 55. № 7696. P. 397–401.
3. Gonzales E.B., Kawate T., Gouaux E. // *Nature*. 2009. V. 460. № 7255. P. 599–604.
4. Bacconguis I., Gouaux E. // *Nature*. 2012. V. 489. № 7416. P. 400–405.
5. Bacconguis I., Bohlen C.J., Goehring A., Julius D., Gouaux E. // *Cell*. 2014. V. 156. № 4. P. 717–729.
6. Tikhonov D.B., Zhorov B.S. // *J. Gen. Physiol.* 2017. V. 149. № 4. P. 465–481.
7. Nagaeva E.I., Potapieva N.N., Nikolaev M.V., Gmiro V.E., Magazanik L.G., Tikhonov D.B. // *Eur. J. Pharmacol.* 2016. V. 788. P. 75–83.
8. Nagaeva E.I., Tikhonova T.B., Magazanik L.G., Tikhonov D.B. // *Neurosci. Lett.* 2016. V. 632. P. 136–140.
9. Alijevic O., Hammoud H., Vaithia A., Trendafilov V., Bollenbach M., Schmitt M., Bihel F., Kellenberger S. // *ACS Chem. Neurosci.* 2018. V. 9. P. 1357–1365.
10. Alijevic O., Kellenberger S. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 43. P. 36059–36070.
11. Tikhonova T.B., Nagaeva E.I., Barygin O.I., Potapieva N.N., Bolshakov K.V., Tikhonov D.B. // *Neuropharmacology*. 2015. V. 89. P. 1–10.

LIGAND DOCKING TO THE ACIDIC POCKET OF THE PROTON-GATED ION CHANNEL ASIC1a

V. S. Korkosh, Corresponding Member of the RAS D. B. Tikhonov

Received October 8, 2018

Proton-gated ion channels of ASIC family play important role in many physiological and pathological processes and represent a perspective target for pharmacological modulation. Recently, atomic-scale structures of ASICs in closed, open and desensitized states have become available. This opened a possibility to model binding of ligands, which modulate ASIC activation and desensitization and to predict structures of new specifically acting pharmacological agents. In the present work we performed docking of a series of ligands, which stabilize open or closed state of ASIC1a. For the first time we revealed a correlation between the spatial ligand structure and its mode of action. We revealed specific interactions of these inhibitors and potentiators with amino-acid residues in the acidic pocket of ASIC1a. The results allow predictive design of new drugs.

Keywords: homology modeling, ligand-receptor interactions, potentiation, inhibition, ion channels.